第二届全国光生物学学术讨论会

論　文　集

中　国·苏　州

一　九　八　八·十　一

58.171083
144

中国生物物理学会
光生物学专业委员会

主　任：路荣昭

副主任：沈　恂　唐树延

委　员：程极济　孙　琦　周佩珍　胡天喜

中国科学院植物研究所图书馆藏

24665

中科院植物所图书馆
S0014747

前　言

光生物学是涉及面相当广泛的一门学科。它包括环境光生物学，光医学，生物钟学，生物光敏化作用，视觉，光运动，光合作用，光形态建成，生物发光和超微弱发光及光生物学实验技术等。就总体水平而言，我国光生物学研究与先进国家相比尚有一段距离。如何更快赶超世界先进水平，是我国光生物学科学工作者一项光荣而艰巨的任务。

自1984年，在广西，柳州召开第一届全国光生物学学术讨论会以来，我国光生物学的研究有了较大的发展。这也部分反应在这本“第二届全国光生物学学术讨论会论文集”中，它表明近几年来我国光生物学科研队伍壮大了，研究的数量与质量有了明显地提高。

在苏州大学有关领导和同志们大力支持与努力下，不仅为本届光生物学学术讨论会的召开，而且又为此论文集的问世创造了良好条件。对此深表谢意。

中国生物物理学会
光生物学专业委员会主任
路荣昭
1988年10月5日

第二届全国光生物学学术会议
论文集

目　录

综述报告

光生物学中的光感受体……………………………………程极济（ 1 ）

生物体的超微的发光及其实践意义………………………胡天喜（ 2 ）

嗜盐菌紫膜的光能转换过程…………………………李庆国（ 3 ）

微藻固定化及其光生物反应器……………………………施定基（ 4 ）

光合作用原初过程中电子传递的微观机理及

“Dom i no”模型………………………………………郭　础（ 5 ）

竹红菌甲素对红细胞膜的光敏化作用……………………程龙生（ 6 ）

光医学、光动物学

不同活体组织的光学特性以及光学法在判定高速投射物

伤后伤道周围组织坏死介限的地位和作用………………付小兵（ 8 ）

H P D溶液光敏特性对荧光光谱的影响…………………刘天夫（ 18 ）

光照对小鼠昼夜活动节律的影响

………………………………童　建　冯致英　杨永年（ 20 ）

直肠癌对光的吸收光谱的实验研究……………陈祖林　黄学令（ 21 ）

G L H光疗仪治疗 1 8例表浅肿瘤……………………… 杨红等（ 23 ）

稀土元素灯对兔离体吞噬细胞功能的影响

……………………………成　鹏　杨　红　谢企良（ 27 ）

时间分辨法测定O_2（$^1\Delta_g$）在溶液中的寿命

……………………………汤又文　于英宁　王文韵（ 28 ）

竹细菌甲素对肝癌细胞线粒体和微粒体的光辐射效应

……………………………………………傅乃武　褚衍信（ 29 ）

〔99TC〕—竹红菌甲素在带瘤小鼠组织内的分布和瘤组织的摄取
……………………傅乃武 褚衍信 燕利学 于宝法 唐 谨（31）
用于PDT的新光敏剂——铝太菁的实验研究
……………蔡怀新 陈暨耀 谢 荣 吕发度 乐一鸣 庄素怀（32）
新光敏剂铝酞青与血卟啉的比较研究……………………陈暨耀等七人（33）
人体组织的光谱透射特性的研究…………………………陈暨耀等5人（33）
三种卟啉类药物对DNA光敏作用的喇曼光谱研究…………
………………………………许以明 徐国瑞 杨先春、张志义（34）
DNA光动力学损伤修复的特点………………………………曹恩华（35）
DNA解旋荧光分析法（FADU）直接检测DNA链的断裂
……………………………………………………辛淑敏 曹恩华（36）
国产新型光敏物质铝酞青对小鼠移植瘤杀伤效应观察
………闵红波 董荣春 彭 迁 吕发度 诸长生 陈暨耀 蔡怀新（38）
正常小鼠肝脏光动力学损伤效应的形态研究
……………周传农 梁军林 丁志侠 冉福香 池顺姬 潘家园（39）
正常小鼠肾上腺光动力作用的超微结构的研究
……………周志农 丁志侠 池顺姬 梁军林 冉福香 哈献文（40）
X线、紫外光、黑光、激光对血卟啉（HPD）产生光敏作用的研究
……………………………………陈煜清 王 健 龚秀兰 刘永志（41）
上消化道癌光动力学疗法的现状与展望…………………金懋林 杨伯琴（42）
两种国产血卟啉衍生物光敏作用原初反应机理的研究
………………………………陶能兵 徐国瑞、何润根 张志义（43）
竹红菌甲素光敏作用的原初过程，Ⅰ产生活性氧的作用及其非氧自由基
机制的转变……………张志义 藏伦义 徐国瑞 陶能兵 王大辉（44）
竹红菌甲素光敏作用的原初过程，Ⅱ产生HA$^-$和HA$^+$自由基的作用
…………………徐国瑞 王大辉 陶能兵 藏伦义 张志义（46）
竹红菌乙素光敏氧化四甲基取代尿酸反应的研究…………王志军 蒋丽金（48）
31PNMR技术研究PhotofrinⅡ对DNA的光敏损伤
……………………………………………………………陈凤英（50）
激光照射穴位治疗动物腹泻的机理…………………………吴 建（51）
血卟啉脂质体的荧光光谱研究……………………………李 路 严学明（52）
不同血卟啉和细胞膜结合能力的研究……………………严学明 李 路（54）

某些物化因素对甲素致敏的乙酰胆碱酯酶光敏失活的影响
……孙继山 程龙生（57）
竹红菌甲素对人红细胞膜骨架蛋白光敏损伤的初步研究
……孙继山 鲁崎嵘 程龙生（57）
竹红菌甲素对膜流动性影响的研究……杜 健 程龙生（58）
U V—N光量子的生物学效应——治疗银屑病机制的研究
……黄孟才 杨 立（60）
正常人和肿瘤患者的光声光谱研究
……孙洪伟 黄孟才 王钦华 钟 权 吴万春（65）

光植物学和光农业生物学

植物绿叶对光的吸收规律的实验研究
……唐建民 傅昌余 王礼兵 刘代玺 陈祖林（70）
不同波长的光对垂盆草组织培养过程中生长发育的影响
……倪德祥 王维荣 王 蓓（72）
光质对花叶芋离体培养的生理生态效应
……倪德祥 王 镭 冯文煦（73）
光质和激素组合对菊花（绿牡丹）茎段培养中生长发育的交互影响
……倪德祥 王维荣 王 蓓（74）
光质和激素组合对石勺柏茎段培养中生长发育的共同作用
……倪德祥 王 蓓 王维荣（75）
光质和激素对吊竹梅组织培养中形态发生的影响
……倪德祥 王维荣 王 蓓（76）
白脉网纹草茎段培养中的红光效应……蒋如敏 倪德祥（77）
不同激素浓度及光质对烟草叶片不定芽形态发生的效应
……张丕方 董崇楣 倪德祥 王 琦（78）
光质对不同生活型植物的器官发生和生长的影响
……张丕方 董崇楣 倪德祥 王 琦（79）
不同光质及其强度对烟草叶片不定芽发生和生长的效应
……董崇楣 张丕方（80）
大豆光周期研究进展……徐 豹 路琴华 庄炳昌（81）

多变鱼腥藻（Anabaena Variabilis）藻胆体一类囊体膜的研究
……………………路荣昭　刘　斌　于延利　管汀鹭　王淑芝（83　）
华北半叶紫菜（Porphyra Katadai Var hemiphylla）藻胆体
的研究…………………………………………路荣昭　于延利（．．）
湖北光敏核不育水稻育性转换的初步研究……………………万邦惠（85　）
在含有叶绿素，电子受体和电子给体的人工生物膜上的光致电子转移
……………………………………………方一非（86　）
G. Tollin（Dept. Biochem. Univ. Avizona U S A）
谈光的《按摩》作用………………………………………褚桂林（89　）
镉离子对菠菜叶绿体光系统Ⅱ的影响
……………………杨丹慧　王可玢　赵福洪　许春辉　戴云玲（90）
植物组织培养中形态发生的作用光谱………潘战生　陈暨耀　蔡怀新（91　）
满江红鱼腥藻（Anabaena agollae）和满江红（Azolla
imbricata Roxb Nakai）共生腔内毛细胞的单细胞吸收光谱及荧
光光谱的研究…………宋　云　刘春香　左宝玉　匡廷云　段续川（92　）
菠菜、水稻叶绿体DNA的分离与纯化
……………………………娄世庆　徐德平　袁建国　匡廷云（94）
紫外光辐射对陆生蓝藻（N. flagelliforme）固氮作用的影响
…………………………………………钟泽璞　王发珠（95　）
大豆叶片光合作用与淀粉的积累与动用………………许守民　苗以农（96　）
农用光生物与技术研究……………………………………唐树延（97　）
光合作用中天线与中心色素分子间的相干能量转移机制的探讨
……………………………………………马忠英　唐树延（98　）
人参高光能利用理论研究……………………………彭俊彪　唐树延（99　）
光质对大豆类囊体膜成份和功能影响的研究…………刘立侠　唐树延（102）
光质对RP. Capsulata N$_3$的光放氢活性的效应
………………………………………孙　琦　胡　根　崔卫东（103）
活体的萝卜抗坏血酸氧化酶催化抗坏血酸有氧氧化的TDP效应研究
………………………………………………………冯万勇（104）
离体的黄瓜抗坏血酸氧化酶催化抗坏血酸有氧氧化的TDP效应研究
………………………………………………………冯万勇（105）
发状念珠藻（Nostoc Flagelliforme Born. et Flah）红色蛋
白的初步分析………………………………………………方昭希（106）

藻蓝蛋白生物合成模型反应：藻蓝胆素的硫醚键的形成
……………………………………………易国良　蒋丽金　马金石　（107）
藻胆蛋白荧光动力学初步研究
……………………………彭程航　梁丽　张美荣　王秀英　练永宁（109）
B—环糊精对单、双及四吡咯化合物的包络及光谱研究
……………………………………………………陈金华　马金石（111）
具放氧活性的光系统Ⅱ中心复合物的制备及其组份和光谱特性的研究
………………………………赵福洪　王可玢　许春辉　戴云玲（112）

生物发光及光生物学技术

植物超弱发光测定条件研究………………………董家伦　李树真　郭洪飞（114）
小麦、大麦、玉米苗期自然超弱发光动力学初探
……………………………………………董家伦　李树真　陆　军（114）
Pres 2的发光酶免疫测定
……………………………刘小明　陈紫榕　陈仁英　郑　瑛
袁志华　周善键　李龙祥　（115）
甲型肝炎流行时Pres 2发光酶免疫测定的临床意义……陈紫榕等　（119）
红外电磁辐射增强大豆种子生物微弱发光………………………谭辉玲　（123）
红外电磁辐射对抗坏血酸氧化酶及其酶动力学的影响
…………………………………………………………谭辉玲　冯万勇　（124）
用超微弱发光探测技术监测冷冻和气功对人胎肝细胞生命状态的影响
……………………………刘亚宁　赵新华　曹　述　刘作斌
张佑云　崔苏逸　徐亦青　（125）
基因工程方法试制荧光素酶
……………………………王维光　曹湘玲　顾俭本　白永延　（126）
萤火虫荧光素的化学合成及其性质………………顾俭本　王维光　（127）
用生物发光技术测定卡介苗ATP含量的研究
…………………………………………………王维光　顾俭本　（129）
光生物学中光辐射测量的研究……………………………郑晓东　（130）
香烟烟油对粒细胞吞噬功能影响的化学发光研究
……………………………张荣泉　邱琦　靳艳　吴元德　（132）

酪氨酸 色氨酸的发光对蛋白质荧光的贡献
……………………………………李庆军 唐树延 张新夷（133）
化学发光测定技术在粉尘毒性研究中的应用初探
……………………………………沈本淑 姜董馨（135）
用单片机控制的ZDS—4型生物发光光度计
……………………………………叶建华 孙炳荣 孙 琦（136）
发光蚯蚓荧光素酶发光体系的性质和应用研究
……………………………………吴自荣 古小文 张盛强 惠永照（188）
中华黄萤萤火虫荧光素酶的纯化和基本性质
……………………………………王 英 陈克明 杨志铭 施建平（139）
利用发光细菌测定人白细胞的吞噬作用
……………………………………朱文杰 汪 杰 阿衣古丽 （140）
化学发光法测量某些合成药和中药的清除O_2^-的作用
……………………………………胡天喜 陈季武 黄振东 李承珠（141）
化学发光法检测照射大鼠细胞吞噬活性
……………………………………周锡锋 程文英 王建平 胡天喜（143）
发光免疫的研究：微机程控自动 检测 Ⅰ针灸对机体NK细胞的免疫功能调节……………陆元林 杨蕊英 陈汉平 邵伟文 王瑞珍 王正昌 黄 键（144）
一种新的测定NK细胞活性一方法—生物发光法
……………………………………杨蕊英 陆元林 程国强 王震昌 黄 键（147）
时间分辨荧光光谱技术在光生物学研究中的应用
……………………………………李湘正 冯扬波 陈秀苇 郭 础 （150）
时间分辨荧光测量的数据处理
……………………………………李湘正 张志广 郭 础 （150）
生物系统超微弱发光的机制及功能探索……………………熊建文 （151）
光生物学中的微弱光信号检测技术
……………………………………张士勇 黄孟才 杭文敬 沈雷洪（153）
光声光谱法测定绿叶的光学特性…………顾 忠 沈雷洪 黄孟才（159）
脉冲激光对生物组织作用的研究
……………………………………王钦华 黄孟才 杭文敬（164）
用化学发光免疫法（LIA）筛查新生儿先天性甲状腺功能低下症（CH）的报告……………………………………袁惠珍等（168）

光生物集中的光感受体

程 极 济

复旦大学　生理与生物物理系

光生物学也是一门交叉学科。内容十分广泛。根据光生物学中的一些光感受体的吸收峰值可画出一光生物学光谱。这个光谱图概括了所有的光生物学过程。这些过程大体上可分为四类：一类是正常的光生物学过程。如视觉与光合作用等；另一类是指紫外光与可见光对生物的刺激或损伤效应；第三类是指与光有关的两个重要的光生物学过程。即光动力作用与光复活作用；第四类是与光作用的相反过程。即生物发光现象。当然它也是一种正常的光生物学过程。

正常的光生物学过程。包括了光生物学中大部分的主要过程。也可分为三种类型：一是光能转化过程。包括光合作用、视觉与嗜盐菌的光能转换（或光合作用）；二是由光触发或启动的效应。包括光形态建成与光周期；三是光引起的位移即光运动如趋光性等。本文主要涉及的是这些正常的光生物学过程。

若从光感受体看。也可将光生物学过程分为三类。一是感受紫外线的光感受体。如核酸、蛋白质与补骨脂素（或香檬豆素类）；二是感受兰光的光受体。如黄素及黄素蛋白。葫萝卜素与胆红素等；三是感受红光的光感受体如原兰素。卟啉与叶绿素以及光敏色素与藻青素等。视紫质类也可分为归入上述几类中。但为叙述的方便将其分开。这是本文的重点。

在光感受体的研究中。近年来对视紫质这一类物质研究得较多。也有一些新的发现和了解。以视紫质（ *Rh* ）为主要感光色素的光生物学过程。过去只知道有动物及人的视觉。现在了解还有嗜盐菌紫膜中的菌紫质（bR）及盐紫质（ *h*R ）。分别执行质子泵功能与氯泵功能。近来又在嗜盐菌细胞膜中发现了感觉视紫质（ SR ）。它执行趋光作用。继而又发现了第四种视紫质叫视黄醛色素。它也执行负趋光性功能所以又称为 SR_{II} 。所有这些视紫质都具有相同的生色团。特别是 *Rh* 。bR 与 SR 都有相似的光循环特点。例如在光循环中都有红移的中间光产物形成；以后又有席夫碱的去质子化作用；许多中间产物之间都有可逆反应；而在反应的时间尺度上也极相似等等。本文拟从原初光过程

对这些光感受体进行讨论。

生物体的超微弱发光及其实践意义（综述提纲）

胡 天 喜

华东师范大学生物系

一、引言

1、概念

2、生物超微弱发光的发现

3、普遍性

4、类型 自发的和诱发的生物化学发光

二、生物超微弱发光的机理探讨

有弱分裂发光与DNA 代谢性生物化学发光与脂质过氧化 酶反应与蛋白质发光 细胞的吞噬作用 体内的自由基反应

三、生物超微弱发光的探测方法

脉冲式光子计数装置

诱发式（化学性和物理性因子）发光对仪器的要求

光谱分析

四、实际应用

1、血清（血浆）的超弱发光与疾病诊治

2、生物的微弱光通讯与生命力

3、分析蛋白质和酶

4、吞噬细胞的吞噬作用发光与免疫功能

5、脂质过氧化、活性氧与肿瘤、衰老的关系

嗜盐菌紫膜的光能转换过程

李庆国

复旦大学生理和生物物理系

（摘　要）

嗜盐菌紫膜的光能转换过程在光生物学中是一个非常活跃的领域。

1、嗜盐菌中的视黄醛类蛋白

继早期在嗜盐菌中发现了菌紫质（bR）后。现在又发现了盐红质（hR）和两种光敏色素 SR－Ⅰ 和 SR－Ⅱ。他们都是含有视黄醛色素团的蛋白。但分别完成不同的功能。bR为光驱动的质子泵。hR为氯离子泵。后两种则与细胞的趋光运动有关。这些新发现使得对嗜盐菌的研究更为活跃。也使其与视色素的关系更为紧密。

2、bR的结构

早期利用电子衍射方法得到了7A分辨率的结构。现在bR的投影结构分辨率已提高至3.5A。17个α螺旋的跨膜结构被进一步证实。各带电基团在蛋白内的空间关系有了更好的了解。他们在分子内的相对排列，一方面影响了bR的吸收最大值的变化。另外一方面在bR分子内部形成一亲水核心。很可能这个亲水核心与质子通道有关。

3、紫膜光化学研究的新进展

紫膜的完全去离子化形成兰膜。而兰膜无光循环和质子泵功能。这说明了一定的金属离子在紫膜完成质子泵功能中的作用。

在紫膜光循环中，人们确定了一个新的中间体，R。他的最大值在350nm。衰减时间很长。在碱性区域内，R产物表现得尤为明显。

对于M产物衰减中的两个组份M_s和M_f也有了更多的了解。很可能他们是彼此不同而又处于相互平衡的组份。这些新发现促使产生了对于光循环及其在质子泵过程中的作用有新的概念。

4、紫膜质子泵机理研究的新手段

人们试图用多种方法研究在bR内248个氨基酸中。某些特殊氨基酸的重要功能。这些途经包括：bR基因的定向突变，并使其克隆，表达；用常规

手段。如紫外辐射使细胞产生突变的bR。并研究一级结构中的突变位点；在不同自然环境中。寻找具有不同突变位点的bR分子；多种化学修饰途经。其中尤以Lys的甲基化。Tyz的碘化和氮化等取得了重要结果。这些研究促进了关于光驱动的质子泵机理的了解。

微藻固定化及其光生物反应图

施 定 基

（中国科学院植物研究所）

细胞固定化是近年来蓬勃发展的生物技术学中一个重要组成部分。它受固定化酶发展的促进而兴起的。自1960年首次报导以后。1974年日本就用固定化细胞在工业上生产天门冬氨酸。固定化细胞与自由生活细胞、固定化酶相比具不少优越性。与异养细胞相比。光合细胞的固定化研究起步较晚。至今只有少数商品生产。多数仍处研究阶段。但是光合细胞可直接利用太阳光作能源。以水和二氧化碳作原料。其代谢产物也与其他细胞不同。因此有其特殊用途。当然也有其特殊困难。

光合细胞包括高等植物的绿色细胞、真核藻类、兰藻（兰细菌）和光合细菌等。近年来研究工作表明。光合细胞中的微藻（包括真核藻类中微型的。以及兰藻）较易进行固定化。並且固定化以后适用于生产。比较有发展前途。固定化微藻的方法基本上与固定化其他微生物的方法相同。大体可分为两大类：主动包埋和侵入性吸附。它们各有优缺点。可作不同用途：主动包埋较适用于单细胞藻类。包埋材料有海藻酸钠、琼脂、角义菜胶等；侵入性吸附用于丝状体藻较好。吸附基质有聚氨基甲酸脂和聚乙烯醇的泡沫。玻璃珠等。至今已进行固定化的微藻中。大部分为兰藻。也有单细胞的小球藻等绿藻。其目的除了分析藻类在物理状态改变后（从悬浮自由运动变为固定化）的生理生化特性外。大多试图用于太阳能生物转换。用来产生氢、氨（铵）、电、甘油、乙醇酸盐、

多糖等有用物质。为此设计了不同的生物反应图。

以满江红鱼腥藻（Anabaena azollae）为实例说明如何进行固定化操作。以及固定化以后其光合、固氮、放氢、产铵、产糖等活性的变化。以及显微及亚显微结构的变化。反应图的应用。

最后提出在我国开展微藻固定化及其反应图设计研究的初步建议。

光合作用原初过程中电子传递的微观机理及"Domino"模型

（工作总述）

郭 础

（北京理工大学应用物理系）

在光合作用原初过程机理研究中。最近取得一个新的重要突破是：确定了光合细菌反应中心的各色素分子是分别以单体细菌叶绿素——脱镁细菌叶绿素——的色素分子链形式。沿细菌叶绿素对批镁原子中心连线为对称轴分布于两侧（1984）。由此而提出的两个基本问题是：为什么实验中发现电子传递只沿一支色素分子链进行？是什么原因使电子只沿色素分子链单向的传递、而其反向传递过程则被完全抑止？阐明这两个基本问题。不仅是揭示光合作用原初过程电子传递机理奥秘的关键之所在。而且也将为人工模拟光合作用、发展新型光电功能材料 依据。因此。这两个问题 自1984年的重大突破之后的光合作用原初过程机理研究中的中心课题。

我们在以共价键相连的卟啉—醌、硝基苯化合物作为模型体系研究分子内电荷转移机理及其影响因素的工作基础上。综合考虑以细菌反应中心 in vivo

的时间分辨光谱研究结果（W.W.Parson D.M.Tiede）。提出了描述光合细菌反应中心电子传递微观机理的Don imo模型。其基本学术思想是：在一对电子给体的电子受体分子间的电子传递。必然引起周围蛋白质分子的构型或构象改变。后者将进而改变由在电子传递过程中所生成的自由基离子对、以及与其相邻的次级电子给体和受体间的空间相对排列的间距和（或）相对取向的改变。其结果将抑止该自由基离子对间的电荷复合、并有利于向次级电子受体分子发生电子转移，根据同一微观机理也。可导致电子传递过程在不同支的给体——受体分子链之间"切换"也是可能的。从而对上述两个基本问题作出可自园其说的回答。

本文将系统讨论支持上述模型的 in vivo 和 in vitro 实验结果和尚待进一步取得的实验证据。

竹红菌甲素对红细胞膜的光敏化作用

程 龙 生

中国科学院生物物理研究所 北京

竹红菌甲素（以下简称甲素）是我国科学工作者发现的一种新型光敏化剂。是从寄生于箭竹上的竹红菌中提取分离得到的一种苝醌类衍生物。在临床上对治疗一些皮肤顽症有显著疗效。对肿瘤有抑制作用。是非常有潜力的一种光动力治疗疾病的药物。但光化学治疗机理尚不清楚。我们从竹红菌甲素对红细胞膜的光敏化作用入手。研究其光敏机理。试图阐明光化学治疗疾病的机理。

工作分以下几个方面：

1、甲素的光谱特性　　甲素的紫外吸收光谱很宽。在可见光区400nm－600nm处有三个很强的吸收峰，消光系数均达到10^4，它具有产生$^1O_2$的能力。量子产率大于0.24；荧光量子产率为0.1；荧光寿命在1－2 ns之间，能自敏光氧化。是优良的光氧化敏化剂。

2、膜蛋白光聚集作用　　甲素经光照能使红细胞膜蛋白光氧化形成交联。当甲素浓度在10^{-7} M时。光照膜蛋白中的Actin(Band 4·1)很快消失。若甲素浓度在10^{-4} M以上。膜蛋白除Band 4·1消失外。也看到Band 1和Band 2很快消失形成多聚物。随光照时间的增加。其它膜蛋白也逐渐光氧化。也观察到膜蛋白巯基的变化。并进一步研究交联形成的机理。

3、膜类脂过氧化作用　　膜类脂在甲素光敏化作用下。不饱和脂肪酸过氧化产生丙二醛。实验证明类脂过氧化不参与膜蛋白交联。类脂光氧化后形成类脂加合物。

4、甲素对红细胞膜上几种酶的影响　　膜上几种酶对甲素的敏感程度如下：

$Ca^{++}-Mg^{++}$ATP酶>$Na^{+}-K^{+}$ATP酶>GPDH酶>AchE酶。与膜结合酶比游离酶敏感。

5、甲素对膜的流动性影响　　使用了荧光漂白恢复技术研究甲素对L929细胞膜蛋白侧向扩散运动的变化。甲素光照使L929细胞膜蛋白侧向扩散运动变慢。同时应用了三种脂肪酸自旋标记物和MSL标记膜蛋白SH基。利用ESR技术研究甲素对膜流动性影响。此外也用荧光偏振技术研究甲素对红细胞膜、类脂、去除部分蛋白的膜及磷脂的影响。

6、甲素对膜蛋白构象的影响　　应用荧光光谱和园二色光谱研究膜蛋白构象的变化。

7、甲素光敏化机理　　应用自旋捕捉技术研究了甲素光照后除产生$^{1}O_2$外。还产生$O_2^{\bar{\cdot}}$。也证明了·OH是由$O_2^{\bar{\cdot}}$转变过去的。此外还得到了甲素自由基。并对甲素自由基进行了分析。我们在研究甲素对红细胞膜的光敏化作用时采用了一些“活性氧”的清除剂。证明甲素光敏化时确实产生了一些“活性氧”。并发现有一稳定的自由基。ESR的实验也验证了这一结果。

不同活力组织的光学特性以及光学法在判定高速投射物伤后伤道周围组织坏死界限的地位和作用

第三军医大学野战外科研究所（重庆）：付小兵　刘荫秋　王大田
唐建民*　付昌余*　赖西南　陈洪

摘　要

本实验采用先进的“积分球”分光扫描技术和滤色照像方法对犬后肢高速枪伤后伤道周围不同活力组织的光学特性进行了探讨。实验结果表明：

1）、尽管不同活力组织对光的透射和反射以及吸收存在显著差异。但同样也有相似的规律。即组织对光的透射比反射比随波长的增加而增加。吸收比随波长的增加而减小；单位厚度组织对光透射反射强度：非枪伤对照肢组织＞伤道周肉眼观正常组织＞变色失活组织。

2）、在600—860、564以及508nm波长范围内。正常与失活组织的消光系数将发生显著差异。这种差异与组织“活度”有关。是光学法判定失活组织界限最重要的理论基础。

3）、采用照像机配以不同滤色镜对创面进行拍照的结果表明：采用红、兰、绿滤色镜拍出的照片。正常与失活组织的显色差异十分明显。较裸眼更易识别它们的分界限。

4）、根据以上结果。我们研制了一种有色光学眼镜再配以各自特定波长的光源供外科医师在手术时应用。有助于识别正常与失活组织的分界限。利于失活组织彻底干净的切除。

关键词：组织光学、光的反射、光的透射、火器伤

*　第三军医大学物理教研室。

不同活力组织的光学特性以及光学法在判定高速投影物伤后伤道周围组织坏死界限的地位和作用

第三军医大学野战外科研究所（重庆）
付小兵、刘荫秋、王大田、赖西南、陈洪
第三军医大学物理教研室：唐建民、付昌余

组织对光的反射、透射特性以及吸收变化规律。不仅是医用光学研究的重要内容。而且对临床疾病的诊断和治疗具有巨大的开发和应用价值。在火器伤的研究中。国外已有人将其用以估计伤道周围不同区域组织的活力并认为正常与失活组织对光的反射将产生显著的差异〔1〕。由于其实验设备复杂。加之检验的波长范围有限。因而缺乏组织对光反射、透射以及吸收变化规律系统的了解。有必要进行进一步的研究。

本实验采用先进的“积分球”技术。配合以扫描分光光度计对犬后肢高速枪伤后伤道周围不同活力组织的光学特性进行了定量研究。在此基础上用照像机配以不同的滤色镜对创面照像。观察照片中正常与失活组织的显色差异。以期为采用光学法判定高速火器伤后伤道周围失活组织界限提供理论依据。

材料和方法

一、标本准备：

采用重庆地区健康杂种犬5只。雌雄不限。体重13—15公斤。3%戊巴比妥钠30毫克／公斤体重 静脉推注麻醉后单后肢致伤。有关致伤方法已有专文报告〔2〕。

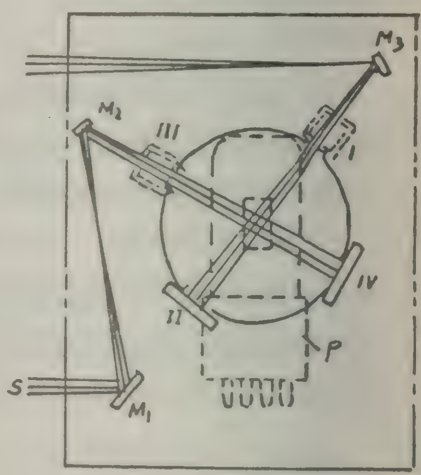
伤后6小时。将伤道出口处皮肤切除。用肉眼“4C”法判定伤道周围组织损伤范围以及正常与失活组织界限并用细线标定。用日本确善能CT－1A（COSINA）相机装以富士HR－100彩卷分别配以红、兰、绿以

及黄四种滤色镜在室内对创面组织进行对比拍照。光源是1300w的镍钨灯。拍照时镜头与创面垂直。距离50厘米。

拍照完毕后。用手术刀沿与伤道纵轴垂直方向切取变色以及与之相邻的肉眼观正常组织1·5×3·0×3·0厘米大小各一块。同时切取对侧非枪伤对照肢相同部位正常组织以进行对照。将标本迅速放入预冷新鲜配制的0·25M蔗糖EDTA注液中（PH7·4）。置－20℃冰箱冻结以保存组织活力。实验前在低温条件下用解剖刀将其切成3·0×1·5厘米大小。厚1·0毫米的薄片备用。三种组织的存活情况经病理光、电镜证实。

二、实验装置：

采用带"积分球"的日本岛津UV-365型双光束扫描分光光度计（图一）。以尺为参考光源。它经世 反镜 M_3 和窗口Ⅰ进入积分球。照在贴紧积分球窗口Ⅱ的氧化镁白板上。其漫反射经世多次反射后均匀照亮积分球的内膜。另一束样品光束S经反射镜 M_1 、M_2 和窗口Ⅲ进入积分球照在窗口Ⅳ 的地方。如果窗口Ⅳ 的地方。如果窗口Ⅳ 是紧贴氧化镁剂的"标准白板"。其漫反射的一部分经积分球底部的孔隙进入光电倍增管P。这时仪器读出的标准白板的反射比为100%；如果窗口 Ⅳ 放的是一黑体。仪器读出的反射比为0，如果窗口换上任一被测物。就可以测出其反射比。测透射比的方法是：窗口Ⅰ敞开。窗口Ⅰ、Ⅳ用氧化镁白板封住。标本平整的紧贴在窗口Ⅲ上。



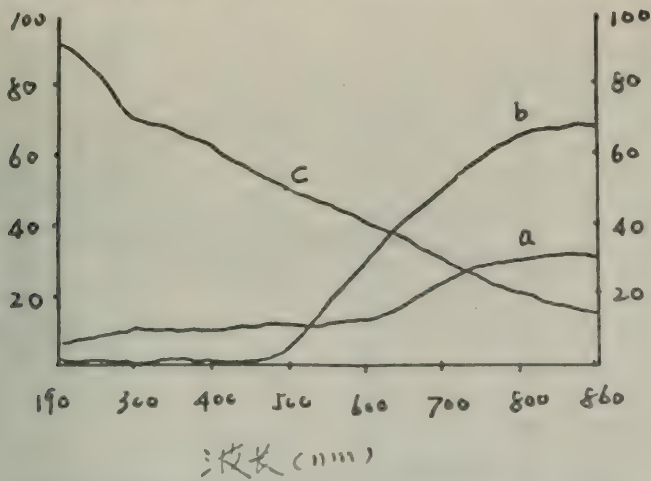
图一：积分球

仪器扫描范围190—860nm。波长精度±0·3~0·4nm。

实验结果

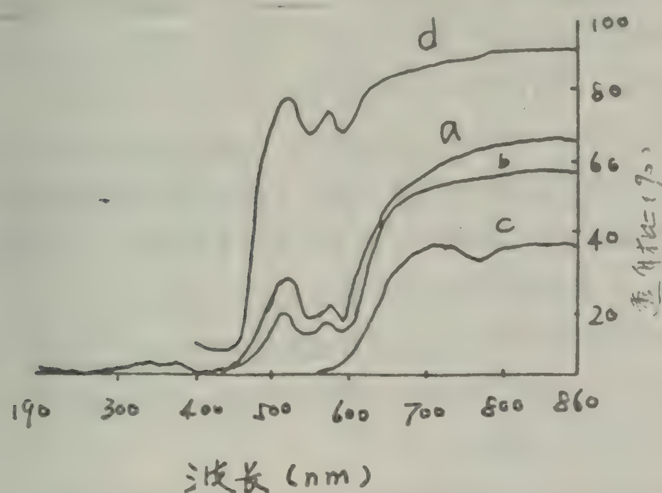
一、三种不同活力组织对光的反射、透射以及吸收变化规律：

1、三种组织对光的反射比、透射比都随波长的增加而增加。吸收比随波长的增加而减小。（图2、3、4）。在600—860 nm波长范围内。单



图二. 组织对光的透射比、反射比以及吸收比规律曲线

a:反射比曲线. b.透射比曲线. c.吸收比曲线



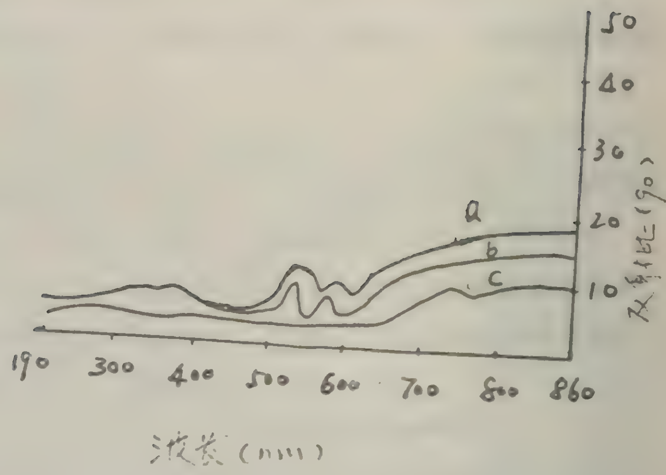
三种不同活力组织对光的透射比曲线

图三. a: 非挫伤对照肌组织.

b. 伤道周围肉眼观正常组织.

c. 伤道周围失活组织.

d: 血液透射比曲线（引自参考文献2）



图四：三种不同活力组织对光的反射比曲线
a：非枪伤对照肢组织
b．伤道周围肉眼观正常组织
c．伤道周围失活组织

位厚度组织对光的反射、透射能力：非枪伤对照肢组织＞伤道周围肉眼观正常组织＞变色组织（P＜０。０５）；在１９０—４５０ｎｍ波长段。三种组织对光的透射为０。反射比基本相同且恒定（P＞０。０５）。

２、在４００—６００ｎｍ范围内。正常组织对光有两个反射和透射峰值。其波长分别在５０８和５６４ｎｍ处。这与血液的透射比曲线非常相似。除此之外。正常组织在３１６和３７６处仍有两个反射峰。伤道周肉眼观正常组织这四个峰减弱。而变色组织则完全消失（表一、图３、４）。

３、变色组织在７６０ｎｍ处对光的透射出现一个减弱的“波谷”。波谷的大小和组织的失活程度呈正比；其它两种组织无此改变。

二、创面滤色照像结果：

在创面拍照中。不用滤色镜所拍的照片。其暗紫色的失活组织与活组织的世界与在手术灯光下术者肉眼所见差别不大；采用红色、兰色和绿色滤色镜。可以增加正常与失活组织的光学对比。从而较清楚的显示它们的分界限。而黄色滤镜则无此作用（照片１、２、３、４）

表一 不同活力组织对光的反射、透射规律 （单位 透（反）射百分率／毫米厚度组织）

组别		反射强度（%）					透射强度（%）				
		800	564	550	508	400（nm）	800	564	550	508	400（nm）
对照肢	x	24.09	4.96	4.39	6.82	3.68	55.23	5.52	1.57	7.56	0
正常组织	SD	5.28	1.16	1.05	1.72	0.70	12.75	4.30	1.16	4.80	0
伤道周	x	17.63*	4.60	4.17	6.29	3.15	58.45	14.00**	8.38**	16.9**	0
正常组织	SD	3.14	0.89	0.86	0.47	0.47	13.23	7.69	5.30	8.38	0
伤道周	x	13.9*6*	2.9*2*	2.7*3*	2.8*0*	2.79*	42.54*	1.38**	0.46**	3.14**	0
变色组织	SD	1.86	0.70	0.53	1.15	0.58	12.75	1.24	0.69	2.77	0

注：* 与正常肢对照组织相比差异显著 P＜0.05

** 与正常肢对照组织相比差异非常显著 P＜0.01

结果分析及讨论

实验结果表明。高速枪伤后不同活力的肌组织对光反射、透射以及吸收尽管存在相似的规律。但其差异也是十分显著的。综合本实验结果。我们将就以下四点重要规律进行讨论：

1、尽管组织的活力不同。但它们对光的反射以及透射在某些波长段内的规律却是相同的。即对600 nm以上的红光部分。透射比反射比最高。吸收比最低。而对400 nm以下的紫光部分的透射比几乎为0。吸收比最大。这证明了紫光不仅对皮肤无穿透作用。同样对肌组织无贯穿作用。按照光的反射规律。随着组织厚度的增加。透射比减弱。反射比增强。但我们发现它们之间并不呈比例关系。实验中我们曾将一块正常组织和一块比其厚一倍的坏死组织进行反射比对比测试。结果发现坏死组织的反射比反而较比其薄一倍的正常组织为小。由此可见。组织对光的透射反射差异。除与组织厚度有关以外。最重要的是与组织本身的结构。表面光洁度、颜色以及含水量有联系。本实验中采用的伤道周围变色组织。其外观为棕褐色、表面粗糙、质地松软。无收缩力。经病理证实已发生变性坏死。而非枪伤肢对照组织则外观红润有光泽。平滑。组织结构正常。这些可能是造成二者之间对光透射、反射和吸收差异最主要的原因。

2、非枪伤对照肢组织在564和508出现的对光透射和反射的峰值。与血液的透射比曲线非常相似。因而我们推测组织块的这种峰值也是由于血液峰造成的。这和国内学者在皮肤的实验结果相一致〔3〕。这种峰值的大小除和局部血液供应的多少以及血氧饱和度含量有关以外。〔4〕最重要的是和组织"活度"有联系。组织活度越高。对光的透射、反射越明显。本实验的非枪伤对照组织经病理证实各项组织结构正常。因而其"活度"最高。透射、反射十分明显；伤道周围变色组织。由于受枪弹的直接打击后。血循环中断。细胞坏死注解。"活度"最低。故它在564和508 nm处的血液峰值便不复存在。二者的差异十分显著（P＜0·01）。至于伤道周肉眼观正常组织。尽管其外表正常。但由于高速枪弹在贯穿组织时的压力波以及瞬时空腔的作用。这部分组织的结构和功能也是有部分损害的。因而表现出在564和508的

吸收峰值也有下降趋势。所以，光学法对判定组织的"活力"具有一定的作用。至于正常肌组织在376和316处出现的对光反射峰值以及变色组织在760nm处对光透射的"波谷"，属实验中的首次发现，尚未见有关文献资料报导。我们推测也是与组织的"活力"有关，特别是与组织的血供和血氧饱和度的高低有联系。有关其临床意义需进一步的探讨。

3、本研究结果发现：正常与变性失活组织消光系数的差异发生在600—860、450—600以及280—400nm处。其中较为明显且可为临床应用的部分是600—800、564以及508等部位。根据特定的光谱变化规律，630nm上 为红光以及红外和远红外部分，564nm处为绿光部分，而508nm则为兰光部分，这三部分消光系数的差异是判定正常与失活组织界限最重要的理论基础。根据这一原理我们采用照像机配以红色、兰色以及绿色滤光镜对创面组织照像的结果表明，这种光学的差别的确增加了正常与变色坏死组织间的光学对比，利于手术者裸眼识别它们的分界线。

过去Hagelin等[5]曾用照像法观察过伤道周围正常与失活组织界限，他认为仅只有红三色滤色镜才有增加正常与失活组织颜色对比的作用。现在看来他的这种结论有其局限的地方。我们的发现是：除了红色滤色镜以外，绿色以及兰色滤色镜同样有增加组织颜色对比的作用，这和我们在本实验中做出的光谱分析结果是一致的，由于人眼对兰光等较为敏感，故我们认为在采用光学法制定组织坏死界限方面，以兰色滤镜的效果较为理想。

对于照像法中显示的正常与失活组织的光学对比差异，除和上述它们对光反射的差异有关以外，是否也和在室内拍照时采用的灯光有联系，为此我们曾进行过对比观察，即在室外自然光下拍照和在室内1300w的碘钨灯下拍照，实验结果表明它们之间并不存在什么差异，两种条件下拍出的创面照片具有相同的效果。

4、根据不同活力组织对光反射的差异以及创面拍照实验结果，我们研制了二种有色光学眼镜（红色、兰色）配以各自特定波长的光源供手术者在清创时应用，会有助于手术者更加精确的判定正常与失活组织界限，特别是在火器伤清创中，更有助于坏死组织干净彻底的清除。它的主要优点是简单、方便，具有一定的可靠性，可应用于战场清创、普外等诸领域。目前我们在这方面已进行了大量的工作，初步的试用已取得了较为肯定的成果。（详细资料详另文报告）。

结束语

通过以上实验，我们可以得出以下几点重要结论：

1、组织对光的透射比、反射比随着波长的增加而增加，吸收比随波长的增大而减小。单位厚度组织对光反射、透射的强度：非枪伤对照肢组织>伤道周围肉眼观正常组织>变性坏死组织。

2、在600—860、564以及508 nm波长范围内，正常与失活组织对光透射和反射的差异是光学法判定组织坏死界限的理论基础。

3、不同照像方法中显示的正常与失活组织光学对比的差异是由于它们对光反射的差异造成的。采用红、兰、绿滤色镜对创面进行拍照，有助于区别正常与失活组织界限。

4、制备一种简单的有色光学眼镜配以特定波长的光源供外科医师在手术中应用，对于坏死组织彻底干净的切除将会有很大帮助。

主要参考文献

1、Hagelin KW et al: Optical properties of muscle tissue in high—energy missile wounds Acta chir scand suppl 1982;508:232

2、Schantz B Is the missile wound a modle suitable tor general trauma studies? Acta chir scand suppl 1982;508:159

3、唐建民等：皮肤对光的反射、透射和吸收规律的初步实验研究。中国激光1987；13(7)：440

4、Hagelin KW et al: Comparison of the visi—ble spectrum of reflected light tor muscle tissue in rats breathing varying amounts of oxygen in ritrogen or pertused with saline Eur surg Res 1980;12:428.

5、Hagelin KW et al: missile injury to muscle tissue—A method tor tacilitating debridement of devitalized muscle tissue by increase colour con—trast Acta chir scand suppl 1979,489:159

THE OPTICAL CHARACTERISTIC OF DIFFERENT VIGOUR TISSUE AND IT'S USE IN DETERINATING THE BORDER LINE BETWEEN VIABLE AND NON-VIABLE TISSUE AFTER GUNSHOT WOUNDS

The research institute of surgory, Third military medical college, chongking Fu Hsiao Bing, at al

Abstract

The experimental results show that: 1) The reflection, transmission and absorption of light rays in different vigour tissue hase the same kind regulation. When wavelength of light increase, the reflection and transmission of tissue increase. The reflection and transmission of same thickness tissue are: viable tissue in undamaged leg > viable tissue in damaged leg > non-viable. 2) Between 600-860, 564 and 508nm, the different in extinction coefficient will occur both in viable and non-viable tissue. it is the important theory basis of determinating the border line of viable and non-viable tissue with optical method. 3) The photographs show that Red, Green and blue filter have a significient effect for increaseing colour con-trast of viable and non-viable tissue. 4) Spectacles maded with special wavelengths filters is useful for surgeon when looking for the border line between viable and non-viable tissue.

Key Words: T-tissue optical, light reflection, light transmttance, gunshot wounds

HPD溶液光敏特性对荧光光谱的影响

中国科学院长春物理所　刘天夫

日本大板大学理学部　木下修一　栉田孝司

内 容 提 要

近年来，国际有关生物物理及医学研究领域中对HEMATOPORPHYRIN 及其衍生物（简称HPD）的研究十分活跃。主要原因是：这种通常被简称为HPD的有机染料，它的组成成份及分子结构与人体血液十分相近[1]，并且很容易被细胞组织吸收。特别是它与癌细胞组织有很高的亲合能力[2]，在激光照射下，对癌细胞组织有极强的杀伤、破坏作用。因此研究HPD与癌细胞的亲合特性、利用高时间分辨率（ps－fs 量级）荧光光谱对癌症的早期诊断与治疗的研究十分活跃。[3]

实验中，我们观测了波长范围3000～7500A内HPD溶液的吸收光谱特性。并在吸收光谱范围内，采用各种不同波长的激光做激发源，测量了HPD溶液的荧光光谱特性[4]。大量实验中我们发现：HPD溶液对某些波长的激光，不仅具有很强的吸收能力，而且在不同光照时间下，它的荧光光谱在某一特定光谱位置上，其峰值与光照射能量之间呈现出可饱和的非线性效果。产生这一现象的原因，我们初步认为是由于HPD在获得适当光能照射后，产生了一种新的光生成物。这种新的光生成物，具有不稳定的特性，它对光的照射十分敏感。对此，我们利用光学多道分析仪（OMA），对HPD溶液的这一特性做了瞬态计时光谱的详细观测。并且首次得到了一族HPD溶液的随吸收光谱能而变动的荧光光谱特性曲线族。

我们把HPD溶液的这种经一定波长范围光线適量照射后，其荧光光谱某一特定峰值的灵敏变化现象称为HPD溶液的光敏特性，并且对它的寿命进行了详细的观测与分析。这一特性对研究荧光法癌症的早期诊断与治疗有十分重要的意义。

参考文献

1、R. POTTIER and T. G. TRUSCOTT INT. J. RADIAT. BIOL, 1986, Vol. 50. No3, 421-452。

2. The First International Conference on the Clinical Applications of Photosensitization for Diagnosis and Treatment. Tokyo 1986。

3、刘天夫 木下修一柿田孝司 日本レーザー学会 RTM-86-22 1986.

4、木下修一 刘天夫柿田孝司 日本生物物理研究報告 生体系レーザー分光 1986.

光照对小鼠昼夜活动节律的影响

童 建 冯致英 杨永年

（南京医学院卫生系 南京）

目前认为，在能够影响生物节律的环境信号中，光照和黑暗的周期性变化是最重要的归化因子。由于机体的大多数自行节律（free running rhythm）并非恰好是24小时，而是稍有偏差（22－26小时），因此就需要同步信号周期性地进行校准。我们于近期测定了在不同光照条件下小鼠的昼夜活动情况，以探讨光刺激在生物节律之维持和调整中的作用规律。

BALB／C纯系雄性小鼠20只，随机分为四组。实验采用人工照明，第一组每天光照12小时（08：00时到20：00时光照、20：00时到08：00时黑暗）；第二组每天光照16小时（06：00时到22：00时光照、22：00时到06：00时黑暗）；第三组为去眼球组，小鼠在乙醚浅麻下迅速摘去双侧眼球，待完全痊愈后进行测定；第四组为染毒组，即在禁食6小时后以1／3 LD_{50}的农药敌敌畏（DDVP）灌胃，然后测定活动情况。第三、第四组的光照条件与第一组相同。

将小鼠置于活动度测定盒内（每盒一只），通过YSD－5药理生理实验多用仪的液晶显示和XWTD－200平衡记录仪，可以连续观察和记录小鼠活动的频数和时间分布。每组实验均从20：00时开始，以24小时为一个周期，持续测定2－3个周期。对记录结果用余弦分析法统计处理。

实验结果，各组小鼠的自主活动均存在昼夜节律性（$P<0.05$），但节律参数不同。第一组到第四组小鼠的24小时活动中值（mesor）分别为：14.11、16.87、14.52和7.87次／小时；振幅分别为7.66、13.53、9.65、和3.77；峰值位相对分别为－343.32度（22点53分）、－27.65度（1点50分）、－301.90度（20点07分）和－106.15度（7点04分）。

统计结果显示，各组小鼠的活动度中值和振幅无显著性差异，而峰值位相的变化则有一定的规律性，其出现的先后顺序为：去眼球组、12小时光照组、16小时光照组和DDVP染毒组。已有研究证实，鼠类的视交叉

上核是一个重要的时间机构（temporal organization），由此发出振荡信号控制多种生物节律与环境间的同步过程。光线通过视网膜作用于视交叉上核，起着调节和校准时间机构的归化作用。当完全阻断光的进入之后，视交叉上核失去了光周期的参照信号，去眼球小鼠的昼夜活动表现固有的内源性自行节律。与接受光照的小鼠相比，其峰值位相提前数小时出现；换言之，光照具有延迟小鼠昼夜活动自行节律峰值的效应。光照时间的延长和黑暗相起始点的后移，也可产生相同的效应。在DDVP染毒组小鼠，峰值活动相的出现明显推迟，提示DDVP对视交叉上核产生了毒性作用。

实验结果表明，异常的光照周期和某些化学毒物一样，都可能导致生物节律的紊乱。

直肠癌对光的吸收光谱的实验研究

陈祖林　黄学金

（第三军医大学八四队）

指导教师：唐建民　傅昌余

（第三军医大学物理教研室）

摘要：我们在研究人体内脏器官对不同波长光的吸收规律的基础上，进一步探讨直肠癌对不同波长光的反射、透射和吸收规律。本实验利用带积分球的UV—365型双光束扫描分光光度计，在波长为190—860nm范围内，测出直肠癌的反射比和透射比，再利用公式：吸收比＝1－反射比－透射比，即可算出吸收比。它将为研究光和激光的治疗、诊断等提供某些参数。

实验结果：

（一）人直肠癌对不同波长光的反射、透射和吸收规律。直肠癌厚6.220mm，病理切片证实为：高分化腺癌，实验曲线见图1。

（二）人正常直肠对不同波长光的反射、透射和吸收规律，直肠厚3.37mm，实验曲线变化规律与直肠癌变化趋势较为相似，只是在量上存在差异。曲线图从略，可参考图2。

结论与简要分析

一、在190～860nm波长之间直肠癌与正常直肠对光的反射比、透射比和吸收比随波长的变化规律相同，即它们都随波长变化而同时增大或减小，同时在同一波长出现吸收波峰或波谷；只是在反射比、吸收比和透射比的量上存在差异，参见图2。这种差异可能是由于癌组织与正常组织厚度不同造成的。

二、在190—860nm范围内，除血液吸收峰外，总的看波长越长的光，直肠癌和正常直肠的反射和透射都越大，即反射得多且穿透性也强，而组织吸收则越少；而波长越短，正常和癌组织吸收得就越多，反射和透射的光却很少。

三、不论直肠腺癌组织还是正常组织，它们的吸收曲线都出现了一系列的血液峰，在415、542和578nm波长处较明显，在275和345nm处隐约可见，与血液吸收曲线比较结果见图2。从图2可见不但直肠癌和正常直肠的吸收峰与血液吸收峰相对应，变化趋势也与血液吸收规律相似，这表明血液在生物组织中对光的吸收影响很大。

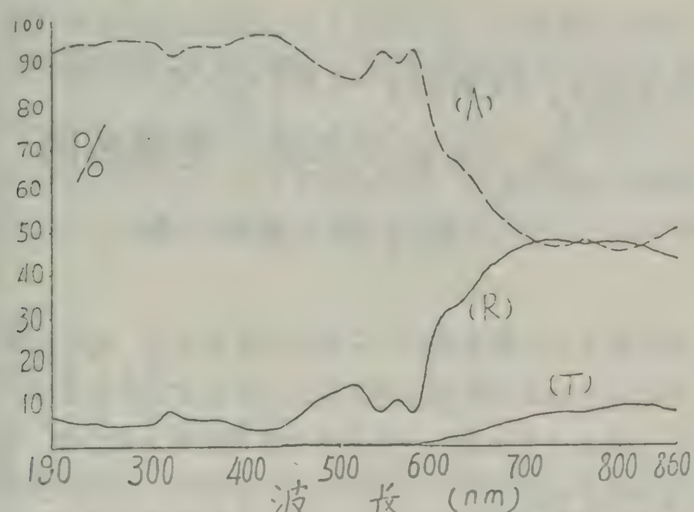


图1 直肠癌组织（厚度为6.220mm）的(R)反射比曲线；(T)透射比曲线；(A)吸收比曲线。

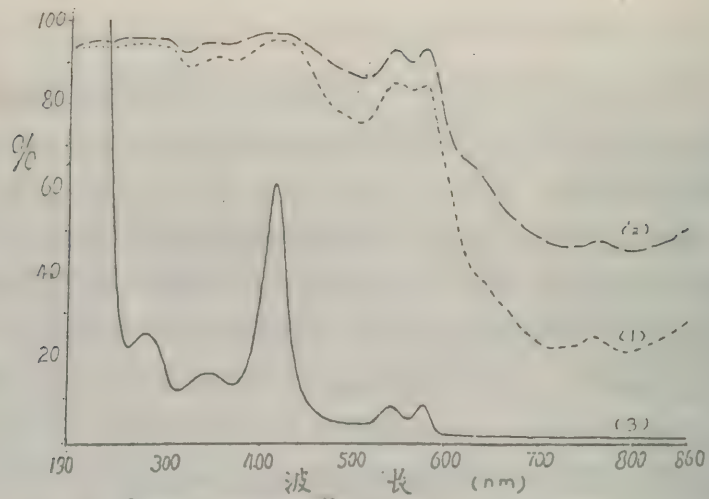


图.2 吸收比曲线

（1）直肠正常组织，（2）直肠癌组织；（3）血液

GLH光疗仪治疗18例表浅肿瘤（摘要）

第二军医大学第一附属医院

理疗科 杨红 等

本文报道了应用新光源——GLH光疗仪加血卟啉衍生物治疗表浅肿瘤。八一电影机械厂与我院共同研制的GLH光疗仪发出红色非相干光，光斑照度均匀，能向各个方向照射，可用于表浅肿瘤的光敏治疗。我们用GLH光疗仪加血卟啉衍生物治疗了18例表浅肿瘤患者。方法是静脉滴注HPD后24—48小时开始用GLH光疗仪照射病变区，每个光斑照射30—40分钟，每日照射一次，连续照射2—7天。18例表浅肿瘤患者中，有效15例（83.3%），其中治愈9例（50%）。作者认为GLH光疗仪加HPD治疗体表恶性肿瘤是方便而有效的方法。

GLH光疗仪治疗18例表浅肿瘤

第二军医大学第一附属医院

理疗科　　杨红　陈夷　盛月霞　谢企良

外　科　　周镇万

耳鼻喉科　阮珊真

内容提要　GLH光疗仪是上海八一电影机械厂与我院共同研制的新光源。用GLH光疗仪加血卟啉衍生物治疗体表恶性肿瘤18例，有效率达83.3%，治愈率达50%，无明显付作用。

关键词　GLH光疗仪　血卟啉衍生物　光敏疗法　恶性肿瘤

光敏疗法近年来发展迅速，已用于各种恶性肿瘤的治疗。目前国内外多采用激光作为光源，因其价格昂贵、操作复杂，不易推广应用。为了进一步发展光敏疗法，为更多的肿瘤患者提供治疗，研制输出功率大、光线穿透深、操作简便的新光源非常重要。

八一电影机械厂与我院共同研制的GLH光疗仪，用卤钨灯作光源，发出红色非相干光，光谱波长为600～700nm。工作距5cm时，光斑直径5cm，焦面光斑功率密度可以达到300mw／cm^2，温度低于40℃。能上下、左右、前后全方位调节，向各个方向照射。可用于表浅肿瘤的光敏治疗。我们用GLH光疗仪加血卟啉光敏剂治疗18例表浅肿瘤，将初步临床疗效分析报告如下。

一般资料

性别：男8例，女10例。

年龄：35～77岁，平均58岁。

肿瘤种类，乳腺癌术后复发8例，鼻咽癌颈部转移3例，头面部基底细胞癌复发3例，头部、肢体鳞状细胞癌4例。所有病例均经病理检查明确诊断。

方法

先做皮肤划痕试验，无过敏反应者，则按每公斤体重4～5mg计算血卟啉衍生物用量。将总用药量溶于200ml5%葡萄糖液中静脉滴注。用药时开始

注意避免接触较强光线，避光2～4周。

用药后24～48小时开始用GLH光疗仪照射病变区。照射距离5～10cm，功率密度不小于200mw／cm²对较大病变采用分区照射，光斑照整个病变区并超出其边界1cm左右，周围正常组织需遮盖保护。每个光斑照射30～40分钟，每日照射一次，连续照射2～7天。鼻咽癌同时用Ar^+激光照射原发病灶。

结果

光敏治疗18例表浅肿瘤疗效

肿瘤种类	CR	SR	MR	NR	计
乳腺癌术后复发	4	2	1	1	8
鼻咽癌颈部转移	1	1		1	3
头面部基底细胞癌	2	1			3
体表鳞状细胞癌	2	1		1	4
计	9	5	1	3	18

治愈率50%　有效率83。3%

疗效判定标准，近期疗效等级

1、完全消失（CR），可见的肿瘤完全消失，超过一个月。

2、显效（SR）：肿瘤缩小50%以上，并持续一个月。

3、有效（MR），肿瘤缩小不足50%，并持续一个月。

4、无效（NR）：肿瘤无缩小或继续增大。

典型病例

病例一：女，40岁，因患左则乳腺癌，于1980年5月行左乳癌根治术，1982年8月发现右侧乳腺癌，10月行右乳单纯切除，术后曾进行放疗和化疗。1986年胸壁出现多个结节，5月份病理检查诊断为乳腺癌复发。

1986年5月26日静脉滴注血卟啉衍生物光敏剂230mg，24小时后用紫外线照射，可见右胸壁及右背部有十多个结节处有橙红色萤光。用红光照射，每个光斑30分钟，每日一次，照射四天后，结节变软，部份消失，萤光消退。治疗后一个月结节消退，皮肤无破损，活检未查到癌细胞。一年后随访未见复发。

病例二：男，50岁，1978年8月确诊为左侧鼻咽癌，经放射治疗痊愈。1980年复发，再做放疗而愈。以后又复发，于1981年，1983年，1984年分别接受放射治疗，1985年YAG激光治疗一次，未完全控制，且左耳后淋巴结肿大。1986年行光敏治疗，静脉滴注血卟啉衍生物300mg后24小时，鼻咽部用氩离子激光照射，左耳后用GLH光疗仪红光照射，照射三次后结痂，一个月后痂脱落，肿块消退。

病例三：男，54岁，1980年发现右耳基底细胞癌1×1 cm，经多次冷冻、放疗，二氧化碳激光烧灼等治疗未愈。1986年7月来诊，见右耳甲腔内溃疡，面积约1×1.5cm，流黄水。经血卟啉衍生物加GLH光疗仪照射，每日一次。每次40分钟，共照射3次。局部结痂，痂落后痊愈。一年半后复查未见复发，右耳甲腔内留有疤痕，听力不受影响。

讨论

一、近十余年各国学者对光敏治疗发表了许多研究资料。光敏治疗已给恶性肿瘤患者带来了新的希望，痛苦小，付作用少，可重复使用是其优点。尤其对于用其他方法治疗作复发的患者，提供了可供选择的治疗方法，增加了治疗机会。本组18例均为复发患者。如能进一步改进光源，光敏剂、治疗方法和合确使用综合治疗，可使这一新技术更好地发挥治癌作用。

二、在光敏治疗中，所用光源种类很多，可归为激光和普通光两大类。GLH光疗仪属普通光源。本组治疗18例表浅肿瘤，15例有效，有效率达83.3%，与用氩离子激光照射的同类病例相比，疗效无显著差别。普通光源比激光光源价廉易得，操作简便，光斑复盖面积大，是治疗表浅肿瘤的选用光源，易于普及应用。

三、在本组病例中，直径小于2cm的皮下癌瘤结节，经GLH光疗仪加血卟啉衍生物治疗，一般可在二周内消退，无皮肤破损，无疤痕。大的癌瘤溃疡或伴有严重感染者，疗效差。本组三例无效者中，有二例溃疡面直径超过15cm，且伴有严重感染。因此，应尽早治疗，提高疗效。

四、常用的光敏剂血卟啉衍生物对蓝紫光吸收得最多，但蓝紫光穿透力差，作用较浅。HPD吸收光谱中红光波段也有个较低的吸收峰。GLH光疗仪发出红光，红光在可见光谱中对组织穿透力最强，作用较深。在本组病例中，红光照射后皮下癌肿结节和淋巴结肿瘤转移灶缩小或消退。可以预言，

在以吸收红光最强的新光敏剂应用后，红光灯在光敏治疗中将发挥更好作用。

总之，作者认为GLH光疗仪加血卟啉衍生物治疗体表恶性肿瘤是方便、有效的方法，值得推广。如能在基层医疗单位普及应用，将能使众多的表浅恶性肿瘤患者得到及时而有效的治疗。在与恶性肿瘤的斗争中发挥更大的作用，造福于人民。

稀土元素灯对兔离体吞噬细胞功能的影响

上海第二军医大学附属一院理疗科

成鹏　杨红　谢企良

〔摘要〕

同上海跃龙化工厂共同研制的稀土元素灯，主要含有钇、铕、钐三元素化合物，产生其特有的发光特性，光谱以620nm～635nm为主，具有特殊的光动力作用。

本文利用兔血进行离体实验，分10组，每组各分对照与实验组。分离后的吞噬细胞以吞噬葡萄球菌的能力为指标，分别观察吞噬细胞的嗜菌率和吞噬指数，记录结果进行统计学处理，发现稀土元素灯可使兔血吞噬细胞嗜菌率提高17%（P＜0.01），使吞噬指数提高1.32（P＜0.05），从而提高了吞嗜细胞的吞噬功能。作者认为由于本灯光谱同He－Ne激光（632nm）相似，有类似的光动力学作用。通过综合因素影响细胞的吞噬功能。通过光的辐射使细胞膜系统及内部超微结构产生相应变化，促进蛋白质的合成及能量代谢，同时使得细胞内DNA含量增加。

作者认为本稀土元素灯设备简单，容易操作，一定程度上似可代替He－Ne激光将理疗引入家庭。因此值得重视和进一步研究。

时间分辨法测定$O_2(^1\Delta g)$在溶液中的寿命

汤又文　于英宁　王文韵

中国科学院长春应用化学研究所

单线态氧分子〔$O_2(^1\Delta g)$〕在许多光生物和光化学过程中起着重要的作用。大量关于单线态氧在液相中的化学和动力学性质研究的文献说明该课题二十多年来一直为生物学家和化学家所关注。譬如：在光敏治疗癌症的机理中，现在普遍认为是$O_2(^1\Delta g)$与癌细胞作用，使其损伤从而达到治癌作用。其过程可用下式表示：

$$O_2(^1\Delta g)+\text{癌细胞}\text{——}\text{氧化产物}$$

其中$O_2(^1\Delta g)$是通过光敏化剂的光敏化作用产生的。

由光敏化产生$O_2(^1\Delta g)$被认为经过下面过程

$$^1S_0+h\nu\longrightarrow{}^1S^*$$

$$^1S^*\longrightarrow{}^3S^*$$

$$^3S^*+O_2(^1\bar{\Sigma}\bar{g})\longrightarrow{}^1S_0+O_2(^1\Delta g)$$

其中$^1S_0$、$^1S^*$、$^3S^*$分别代表基态光敏剂以及单重激发态和三重激发态光敏剂。敏化产生的单线态氧分子通过辐射跃迁回到基态时最可能的两个途径为$^1\Delta g(V'=0)\longrightarrow{}^3\bar{\Sigma}\bar{g}(V=0)$和$^1\Delta g(V'=0)\longrightarrow{}^3\bar{\Sigma}(V=1)$其对应的波长分别为1270nm和1590nm由于两个跃迁的Franck—cendon因子比例1:0.097。(0.1)的发射强度比10。01弱大约60倍，因此人们一般对单线态氧的(0.01跃迁感兴趣。

我们在国内第一次测得单线态氧在几种溶剂中的寿命，实验是用YAG脉冲激光诱导血卟啉，亚甲兰、四苯基卟吩、孟加拉玫瑰红B等与生物化学有关的光敏剂，在溶液中产生单线态氧，并利用时间分辨方法直接监测$O_2(^1\Delta g)$在1270nm的磷光发射寿命。

单线态氧的寿命是涉及到$O_2(^1\Delta g)$光生物反应的一个重要物理参数，由于寿命值的倒数就是反应速率常数，并能用来计算量子产率，因此寿命值对于确定光生物反应中光照强度，光照时间；选择溶剂和敏化剂以及确定敏化剂的浓度

都具有重要的参考价值。

现将我们工作列表如下：

$O_2(^1\Delta_g)$在溶液中的寿命（MS）

溶剂	敏化剂	本工作
重水	血卟啉	65
	亚甲兰	70
丙酮	血　啉	48
	亚甲兰	41.5
	孟加拉玫瑰红B	46
苯	四苯基卟吩	32
乙醇	血卟啉	14.3
	亚甲兰	12.6
	孟加拉玫瑰红B	16
氯仿	四苯基卟吩	260

我们使用国产Ge光电二极管，在国内第一次直接测定了$O_2(^1\Delta_g)$在一些溶剂中的寿命，测定值与近期文献报导中公认的数值相符，实验结果说明$O_2(^1\Delta_g)$的寿命主要取决于溶剂的本质在同一种溶剂中，它的寿命是基本相同的。

竹红菌甲素对肝癌细胞腺粒体和微粒体的光辐射效应

傅乃武　褚衍信　（中国医学科学院肿瘤研究所）

安静仪　　　　　（　中科院感光化学研究所　）

竹红菌甲素（HypocrellinA，简称HA）是我国学者首先发现的一种新型光敏剂，临床上对外阴白色病变和疤痕疙瘩有显著疗效。我们观察到HA对人癌细胞和动物移植性肿瘤有明显的光动力作用[1]。本文报道HA对

肝癌细胞线粒体和微粒体的光辐射效应。昆明种小鼠，♀，体重18～23g，腹水肝癌，取接种后第7天腹水分离线粒体和微粒体。HA是纯品，用无水乙醇溶解，加双蒸水至所需浓度，乙醇浓度＜1%。光源为高压钠灯，400瓦，发射光谱主峰600nm，灯管四周有一密封玻璃套管，通以流动冷水以散热。光照距离10cm，光照强度63J/cm^2。

结果 一、HA合并照光10分钟，线粒体ATP酶显著受抑。HA剂量为25mg/ml，单胺氧化酶活性没有明显改变。HA50ug/ml合并照光10分钟，线粒体膜蛋白巯基含量显著减少。HA6ug/ml合并照光10分钟，线粒体膜脂质过氧化作用明显增加，TBA一反应产物量显著增多。HA50ug/ml合并照光10分钟，线粒体膜通透性改变，线粒体肿胀。二、HA12.5ug/ml合并照光10分钟，肝癌细胞微粒体G－6－P酶活力无明显改变，当HA剂量增至25ug/ml，酶活力明显受抑。HA5ug/ml合并照光10分钟，膜脂质过氧化作用明显增强，过氧化产物量显著增多。HA25ug/ml合并照光10分钟，微粒体膜蛋白巯基含量显著减少。

以上结果表明，HA对肝癌细胞线粒体和微粒体膜有显著的光敏效应，破坏其结构和功能。对线粒体ATP酶有明显抑制，对MAO没有明显影响，说明HA的光敏效应有一定选择性。我们认为，线粒体和微粒体是细胞内HA光动力作用的敏感靶部位。

文献：

1、傅乃武等. 竹红菌甲素对人癌细胞和动物移植性肿瘤的光动力作用。中华肿瘤杂志

1988；10：80

[99TC]—竹红菌甲素在带瘤小鼠组织内的分布和瘤组织的摄取

傅乃武　褚衍信　燕利学　于宝法　唐　迺、安静仪×

（中国医学科学院肿瘤研究所　北京）

竹红菌甲素（Hypocrellin A，简称HA）是一种新型光敏剂，我们曾报道HA对人癌细胞和动物移植肿瘤有明显的光动力效应（傅乃武等．中华肿瘤杂志 1988；10：80），有可能发展为一种有效的光动力治疗药物。HA在体内各组织的分布和瘤组织的摄取尚未见报到。本文用99TC标记HA，轻记率为99．99%。昆明小鼠皮下接种S－180瘤细胞，长至第7－8天，肿瘤呈黄豆大小时，尾静脉注入HA 5mg／kg，99TC含量为0．27mci／鼠。给药后不同时间从尾静脉取血，断颈椎处记小鼠，取各组织，吸去血液，称取100mg，于 计表仪测定。静注HA后第1分钟血液含量2，838ng／ml，15分钟91．8ng／ml，30分钟73ng／ml，90分钟34．5ng／ml，5小时11．5ng／ml．24小时2ng／ml、可见HA从血液的消除是很快的，15分钟的血药浓度减至第1分钟的3．2%，5小时减至0．4%。静脉注入HA后各组织内HA浓度见下表。

表〔99TC〕－HA在S－180小鼠组织内分布（ng／g组织）*

组织	给药后时间（小时）2	5	12	24
肝	331，464± 114，560	598，944± 250，187	436，720± 129，125	25，330± 13．170
脾	127，678 37，938	36，156± 23，716	5，225±3，020	1，190±860
肺	23，301±7，639	30，560±16，332	10，115±760	840±635
肾	5，820±1，319	3，481±1010	5，115±5，620	200±46
瘤	220±43	371±24	1.20±5．5	11．5±1．0
心	179±42	212±54	155±60	65±29
皮肤	145±100	232±70	70±35	15．5±1．0
肌肉	74±17	162±5．1	76±7．5	14．5±6．0

胃	70±5	224±58	65±16	17±15
脑	58±20	143±7.3	20±10	7.5±6.5

* 3只小鼠的X±SD

从上表，静注HA后QX肝、脾、肺和肾含量高，瘤组织居第5位。各组织含量（肾和脾脏除外）QX第5小时最高，这与我们用HA作光动力治疗时QX第5小时光敏效应最为明显是符合的。第5小时瘤组织和皮肤HA浓度的分配比是1.59，而血卟啉衍生物（HPD）在注射后72小时两者的分配比为1.27（GOmer、C、T等：Cancer Res，1979；39：146）。这为浅表肿瘤的光动力治疗提供了实验依据。脑内HA浓度低说明HA很少通过血脑屏障，肝脑内HA浓度最高，提示HA的主要代谢器官可能是肝脏，

用于PDT的新光敏剂一铝太菁的实验研究

复旦大学物理系　蔡怀新　陈暨耀　谢　莱

第二军医大学病理解剖教研室　吕发度

上海染料研究所　乐一鸣　庄素怀

摘　要

近年来，光敏法诊治癌症的研究正在临床与基础两方面继续深入。虽然光敏剂——血卟啉衍生物（HPD）对癌细胞有着较强的光敏杀伤作用，但它同时存在着不少不足之处，其组份至今尚不完全清楚，体表皮肤的光毒反应，以及它的主吸收峰带在紫光波段（405nm），与临床治疗肿瘤时使用人体组织透射率最佳的红光波段相悖。因此为了继续推动PDT的研究，寻求新的更为理想的光敏剂已成为令人瞩目的重要方面。自1985年起国外已逐步形成寻求新光敏剂的新势头。

本文报导我组在新光敏剂探讨方面所作的工作，主要介绍新光敏剂铝酞菁的化学结构，光谱特性以及对癌细胞及正常细胞的光敏反应实验。经对不同浓度铝酞菁，不同光剂量的细胞实验，确认铝酞菁有较强的光敏杀伤作用。铝酞菁的吸收峰恰在红光区的675nm，是具有应用潜力的新光敏剂之一。

新光敏剂铝酞菁与血卟啉的比较研究

复旦大学物理系　陈暨耀　谢　荣　蔡怀新
第二军医大学病理解剖教研室　吕发度　董荣春
上海染料研究所　乐一鸣　庄素怀

本文介绍我组自行研制的新光敏剂铝酞菁与血卟啉在以下几方面的比较研究。

1、光谱特性，吸收光谱与萤光光谱的比较。

2、细胞对光敏剂的吸收。用萤光片测定肝癌细胞对两种光敏剂的吸收，最佳孵化时间，及在细胞内的潴留时间。

3、对细胞的光敏杀伤。比较了两光敏剂在不同剂量下对肝癌细胞的光敏杀伤能力。

4、不同波长的光敏杀伤效应。比较了两种光敏剂在不同的波长范围内各自对肝癌细胞的杀伤效应。

人体组织的光谱透射特性研究

复旦大学物理系　陈暨耀　诸长生　蔡怀新
第二军医大学病理解剖教研室　闵红波　董荣春

随着光敏技术诊治癌症在临床上的应用，需要对人体组织的光谱透射特性有越来越多的了解，以期选择最佳应用波段。

本文介绍，我们采用的两种实验方法所获得的实验结果，首先采用高分辨率的双光栅单色仪及光学计数技术对切成不同厚度的离体人体组织在整个可见光范围进行光谱透射扫描。进而对透射较佳的红光区（血卟啉的红光吸收峰为630nm，铝酞菁的主吸收峰为675nm），利用染料激光及光针探针技术对活体小白鼠组织的光谱透射特性进行实验研究。

三种卟啉类药物对DNA光敏作用的激光喇曼光谱研究

许以明　徐国瑞　杨先春×　张志义

（中国科学院生物物理研究所　北京）

摘　要

利用卟啉类光敏药物诊治癌症是一种新方法。目前这种技术在美国、加拿大、澳大利亚和日本已获得激动人心的成果。我国也十分重视这项工作，先后列入"六五"和"七五"国家攻关项目，并研制出优于美国Photofrin Ⅱ的卟啉类光敏剂一杨州光卟啉（YnPD），临床应用疗效显著，达到世界先进水平。目前国内外的科研工作者正从各个角度集中探讨卟啉类光敏药物治疗癌症的机理，为该药物的改进和研制及各类癌症的诊治提供了大量的数据和依据。

本工作用激光喇曼光谱从分子水平对　啉类光敏药物一杨州光卟啉（(YHPD)、美国Photofrin Ⅱ（PHⅡ）、北京血卟啉衍生物（HPD）与小牛胸腺DNA的相互作用进行了研究和比较，得到了在激发线和功率不同的激光照射下，不同浓度的卟啉类药物与浓度4％的小牛胸腺DNA溶液随照射时间变化的喇曼光谱。结果表明：

（1）在本实验条件下对小牛胸腺DNA损伤最强的是国产的杨州光卟啉。美国的Photofrin Ⅱ和北京血卟啉的衍生物分别居第二、第三位。

（2）该DNA受到损伤的程度取决于卟啉类药物的浓度，激发线的波长、功率和光照时间。

（3）该DNA受到损伤时各个组份一骨架磷酸二脂（$-PO_2-$）、电离化的磷酸基团（PO 2）、脱氧核糖和碱基乌嘌呤、腺嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶均有不同程度的损伤。指定为上述各个组份的不同基因的喇曼特征频率有着明显的变化如1662、1579、1489、1458、1378、1341、1302、1255、1241、1223、1094、831、787、749、726、684、677 cm^{-1}等，它们相应的谱线强度普遍下降以至消失。谱线的半高宽度大多变宽。但当YHPD及Photfrin Ⅱ浓度为0。015mg／ml，激发线为4880A、光照1（1）时左右，

指定为脱氧核糖一磷酸在1458cm^{-1}和脱氧核糖C-O伸张的在1052cm^{-1}的谱线强度反而增加（其原因在正文中讨论）。上述现象说明受到损伤的DNA某些部位的碱基环发生了变化和破坏，有的碱基间氢键已断裂甚至有键的断裂发生。此时均匀的小牛胸腺DNA溶液已不复存在，它是一个混合物。内有比原DNA短的具有修改的B型构象的DNA，缺少某个碱基（或多个）的DNA以及DNA的双螺旋中可能有一股在某处发生了断裂还有无规的长短不一的多核苷酸等。它不再是具有B型构象的双螺旋小牛胸腺DNA而像一段受到破坏的古长城。

（4）用激发性4880A照射所得到的喇曼光谱都有位于880cm^{-1}附近和1276cm^{-1}附近的二根谱线。前者是过氧化氢的特征频率，后者待定。这是天然小牛胸腺DNA光谱中所没有的。由此可知上述反应的最终产物中有过氧化氢。用激发线5145A照射时也有此类现象，但不明显。当YHPD和Photofrin Ⅱ的浓度为0.015ug/ml时，激发线为4880A、光照1小时左右的喇曼光谱中有强而尖锐的过氧化氢谱线说明在它附近有拉电子的物质存在。

（5）作者们根据上述结果讨论了卟啉类光敏药物与DNA相互作用的机理，认为该DNA受到的损伤是由于活性氧（$^1O_2$、O_2^-、·OH）和非氧自由基多重作用造成的结果。

*石油化工科学院

DNA光动力学损伤修复的特点

曹恩华

中国科学院生物物理所　北京

DNA是细胞繁殖遗传的重要物质基础，在光生物学的研究中具有重要的地位。无论用体内培养的细胞或体外培养的细胞进行研究，在有血卟啉衍生物，

竹红菌甲素存在，用可见光照射，均可观察到DNA的链断裂，而这种断裂的产生主要是由$^1O_2$引起的，DNA光动力学的研究证明鸟嘌呤是DNA光敏氧化反应中主要损伤部位。

在培养的人类细胞，光照后进行修复培养，观察到诱导的单链断裂DNA减少，断裂重接能力和光照剂量有关，显然光敏氧化反应能够造成DNA损伤，这种损伤的DNA细胞能够修复和部分修复。

对于DNA光动力学损伤修复，我们因座基磷灰石荧光分析等方法成功地测定了竹红菌甲素和血卟啉衍生物两种光敏剂诱导的Hela细胞DNA光动力学损伤修复。

1、DNA单链断裂频率：当细胞的存活率接近时，γ－射线诱导DNA单链断裂数量约是光动力学损伤的三倍。分别为：γ－射线6×10^{-10}断裂／道尔顿，甲素2.3×10^{-10}断裂／道尔顿，HPD1.8×10^{-10}断裂／道尔顿。

2、DNA单链断裂的重接能力：当产生等量的单链断裂时，光动力学损伤的细胞修复能力低，照后修复保温60分钟，γ－射线（500rad）照射细胞单链断裂的重接率是竹红菌甲素及HPD光动力学损伤细胞的二倍多。

3、修复的抑制能力：光动力学损伤修复能够被羟基脲、放线菌素D，环已胺等与DNA、RNA蛋白质合成有关的抑制剂所抑制。

光动力学损伤和γ－射线损伤，具有不同碱基选择性，故产生断裂的化学性质不同，所需要的修复酶可能不同，另一方面残留的光敏剂可能对修复有影响。

DNA解旋荧光分析法(FADU)直接检测DNA链的断裂

辛淑敏　曾恩华

中国科学院生物物理所　北京

八十年代发展起来的DNA解旋荧光分析法（FADU）具有简便快速和灵敏度高的特点，无需放射性同位素标记及单、双链分离步骤，其原理主要根

据DNA链断裂数与DNA在碱性溶液内解旋速度成正比。以溴化乙锭（E、B）为荧光探剂，通过DNA—EB结合相对荧光强度的测定，反映DNA结构的变化。

本文适当改进了Birnboim等人报导的方法，用于测定HPD光敏作用的人宫颈癌细胞（Hela）株DNA链断裂。即取对数生长期的细胞制成浓度为0.5－1×10^{6}个／ml的细胞悬液，分为对照组、单纯光照组和HPD处理组。HPd处理的细胞悬液，经可见光照射不同时间，功率为2.5kw／m²。DNA解旋一定时间后，所残留的双链百分比由T、P、B组管的相对荧光强度来计算，每管细胞悬液为0.4ml，P管加入0.2NNaO21的溶胞液0.1ml，在0℃致置30分钟后，加入中和液（0.1M葡萄糖及14mM巯基乙醇），停止解旋，加入1.1ml溴化乙锭（最终浓度为2mg／ml）。T管先加中和液，后加解旋液。B管先经超声剪切成DNA片段，在室温下完全解旋，三组管子经简短时间的超声后进行相对荧光强度测定（Xex520nm、Xem600nm），残留的双链百分比（dsDNA）由下式计：

$$ds DNA\% = (F_P - F_B)/(F_T - F_B) \times 100$$

结果表明用25ug／mlHPD处理的Hela细胞dsDNA%随照射剂量增大而减少（0－6分钟），继续照射大于六分钟，残留荧光物增强，原因尚不清楚。六分钟照射的细胞DNA链断裂的重接是双相变化，即分为快修复及慢修复两个过程，保温60分钟，约有50%左右的链断裂未被重接。

国产新型光敏物质铝酞菁对小鼠移植瘤杀伤效应观察

第二军医大学　闵红波　董荣春　彭迁　吕发度

复旦大学　诸长生　陈暨耀　蔡怀新

用光敏物质治疗恶性肿瘤已成为肿瘤治疗中的一种重要疗法。由于光敏剂能聚集于肿瘤局部，在一定波长的激光照射下能发出荧光，可以进行肿瘤定位诊断和产生各种自由基杀死肿瘤细胞。因此，它在某些肿瘤的诊断治疗中有着不可代替的作用。目前国内常用的光敏剂多为血卟啉衍生物（HPD），但由于HPD成分复杂，纯化困难，红光吸收差，皮肤的光毒反应较重，因此，探索新型光敏剂成为人们努力的方向。

我们同复旦大学物理系合作，应用国产光敏物质铝酞菁（Aluminium Sulphonated Phthalocynine Alspc）对荷瘤小鼠进行PDT治疗。

将S180肉瘤接种于ICR纯系小鼠腹部皮下，待肿瘤长至直径1cm左右，腹腔注射ALSPK 10mg kg⁻。动物随机分为实验组和对照组，对照组又分为单纯用药组、单纯照光组和空白组。实验组用药60小时后，肿瘤局部去毛，照光30分钟，光斑直径1cm，功率密度100mw/cm^2，总剂量为180J。

结果：治疗组照光10小时后，肿瘤表面可见斑片状瘀血。24小时后，肿瘤瘀血更加明显，表面结痂，呈棕褐色，肿瘤塌陷，表面变扁平。有的整个肿瘤呈黑色，呈现明显的坏死。肿瘤切片观察：瘤组织发生坏死，细胞裂解。对照组肿瘤无明显变化，切片见肿瘤呈均质的鱼肉状结构，无坏死。

治疗组PDT治疗一周后，瘤体积明显缩小，有的甚至看不到肿瘤。对照组（包括单纯用药组和单纯照光组）肿瘤继续增大，表面呈菜花样隆起，向外突出，有的则向内生长压迫气管，有的很快出现恶病质而死亡。

肿瘤体积的对比：治疗组肿瘤体积明显小于对照组，两者有显著性差异。

小鼠生存期的对比：从肿瘤接种之日算起，治疗组小鼠生存期明显长于对照组，两者有显著性差异。

从我们的实验结果来看，国产光敏物质铝酞菁有明显的杀肿瘤效应。这方面的工作尚有待于深入研究。

正常小鼠肝脏光动力学损伤效应的形态学研究

周传农　梁军林　丁志侠　冉福香　池顺姬

中国医学科学院肿瘤研究所电镜室

利用激光血卟啉治疗肿瘤，近年来在国内外受到广泛重视并有不少显著的进展。为了深入认识光敏剂血卟啉的剂量、时间间隔及光剂量等因素与正常器官组织光动力学损伤效应的关系，本文对不同条件下小鼠肝脏的光动力学损伤进行了大体、光镜和电镜观察。

正常小鼠腹腔注射扬州血卟啉2.5、5、10mg／kg，于1、2、3、7、14及45天后，于全麻下开腹直接用氦氖激光照射肝脏。光斑直径4mm，功率密度238mw／cm^2、照光剂量1、2、5、10、25、50、100、200J／cm^2不等。照光后48小时处死取材，每批3—5只小鼠。

实验结果表明，各种不同条件下引起肝组织坏死的最小照光剂量如下：

注射血卟啉2.5mg／kg后24、48、72小时照光10J／cm^2、7天照光25J／cm^2、14天照光50J／cm^2。

注射血卟啉5mg／kg后24、72小时照光10J／cm^2、注射后48小时照光5J／cm^2、注射后7、14天照光25J／cm^2、45天照光50J／cm^2。

注射血卟啉10mg／kg后24小时照光2J／cm^2、48、72小时照光5J／cm^2、7天照光10J／cm^2、14天照25J／cm^2。

凡较以上更大的照光剂量，无例外地都引起坏死，坏死灶的直径亦相应增大。

对照组小鼠不用血卟啉，开腹单独直接照光100J／cm^2，肝脏无明显变化，故激光的热效应可以除外。

石腊切片光镜观察见坏死灶内肝组织已完全坏死，正常组织结构消失。超薄切片电镜观察见坏死灶内肝细胞已完全坏死崩解。

本文观察结果充分表明，肝脏可能是体内对光动力学作用最为敏感的器

官。各种条件下引起坏死灶的直径大小不同，可能与光斑内的光照强度不均匀性、肝脏随呼吸运动而发生的上下活动等有较密切的关系。注射后4 5天照光仍可引起肝脏组织坏死，提示血卟啉在肝内存留时间很长，值得注意。本文结果还提示肝脏对光敏损伤十分敏感，故在临床治疗工作中，如患者于手术前曾接受注射光敏剂血卟啉，则在腹部手术中、或在术后拟照射手术野以杀灭残存的肿瘤细胞时，均宜注意对肝脏避光保护以免引起损伤。

正常小鼠肾上腺光动力学损伤作用的超微结构研究

周传农　丁志侠　池顺姬　梁军林　冉福香　哈献文

中国医学科学院肿瘤研究所

利用激光血卟啉治疗肿瘤，是国内外受到广泛重视的一项新技术。但关于光动力学治疗的体内作用机理，还有不少问题有待深入研究。为了深入认识机体各种器官组织对光动力学作用的反应，本文通过电镜观察了正常小鼠肾上腺光动力学损伤坏死的发生发展过程并探讨其作用机理。

正常雌性NIH小鼠经腹腔内注射扬州血卟啉10mg／kg后24小时，于全麻下开腹用氦氖激光直接照射左侧肾上腺（238mw／cm^2，100J／cm^2）。光照后1、3、6、12、24、48小时分别处死，每批3只，肾上腺组织经Epon812按常规包埋，超薄切片作电镜观察。

肉眼观察1小时后肾上腺表面略红；3小时后变鲜红；6小时后肿胀，表面和切面均呈暗红；12小时后更肿，深暗红色，质地变脆；24小时后变深暗紫红色；48小时后变灰暗紫红色或灰暗苍白缺血，已明显坏死。

电镜观察正常对照组肾上腺超微结构典型如一般文献记载。光动力学处理后1小时，皮质和髓质的实质细胞结构良好，但血管充血，内皮细胞肿胀，出

空泡和断裂。3小时后实质细胞结构仍基本完好，但血管内皮细胞多已肿胀退变、断裂或大段消失。6小时后大部分实质细胞仅轻度退变，而许多血窦内皮细胞已显著退变固缩且常形成宽大的断裂口。12小时后许多实质细胞虽已退变较重，但仍有不少细胞的结构保存基本完好，而血窦内皮细胞则广泛发生严重退变损伤，有的已坏死破碎。24小时后实质细胞和血窦内皮细胞都已广泛严重退变或坏死。48小时后，整个肾上腺组织结构破坏，细胞破坏，许多坏死细胞崩解成碎片，正常结构完全消失。

观察结果表明肾上腺对光动力学作用是很敏感的。在其损伤过程中，血管内皮细胞发生的改变明显早于实质细胞。这一结果与我们以往对小鼠皮肤和脑以及人膀胱癌光动力学处理后的超微结构改变所见非常相似，进一步说明了血管损伤改变在光动力学治疗体内作用机理中的重要意义。

X线、紫外光、黑光、激光对血卟啉衍生物(HPD)产生光敏作用的研究

陈煜清　王　健　龚秀兰　刘永志

（中国医学科学院肿瘤研究所生化室　北京）

近年来应用HPD加激光的光动力疗法（PDT）治疗肿瘤，在临床上取得较大的进展，由于激光的穿透组织能力有限，因此有人试图在PDT治疗中以穿透力强的X线代替激光照射瘤体，以提高PDT的疗效。PDT疗法的基础是由于HPD的光敏作用。因此X线能否代替激光来增强PDT的疗效，关键问题是了解X线照射HPD后使HPD产生光敏效应的程度。为此以X线、紫外光、黑光及激光四种不同照射源照射结合有YHPD（光卟啉为扬州生物化学制药厂产品）的肝癌细胞，观察他们各自对肝癌细胞膜所产生的光氧化作用来了解这四种光源对YHPD所产生的光敏作用。

实验组（肝癌细胞＋YHPD）与对照组（肝癌细胞）经四种不同光源照射后均测定膜脂光氧化作用产物——丙二醛含量结果。

（１）经激光（氩离子染料激光——６３００Ａ°）照射后其丙二醛含量比对照组增加其增加百分率随激光剂量增加而增，当照射剂量为２３、５３及１００焦耳时丙二醛增加百分率分别为２７%、６２%、及１４７%。

（２）经黑光（光强０．２mw／cm^2，光距２cm）及紫外光（沪光板为３６５０Ａ°，光距１５cm）照射不同时间后其丙二醛含量均比相应的对照组增加，在光照时间为１０、２０、３０分钟时，丙二醛含量增加百分率黑光分别为３４．４%、６８．９%及１０６．８%。紫外光分别为１６．４%、５１．０%及６８．４%。

（３）经不同剂量（５、１０、１５、２０、２５、３０、３５及４０ＧＹ）Ｘ线照射后其丙二醛含量基本与对照组相同，不随Ｘ线照射剂量的增加而增加。

（４）以不同浓度ＹＨＰＤ与肝癌细胞结合后分别以Ｘ线２ＧＹ剂量照射及黑光３０分钟照射，结果经Ｘ线照射的其丙二醛含量仍与对照（不光照）相同，不随ＹＨＰＤ浓度的增加而变化。但经黑光照射的其丙二醛含量却随ＹＨＰＤ浓度的增加而增加。

以上结果表明无论是黑光、激光、紫外光在本实验所用条件下照射结合有ＹＨＰＤ的肝癌细胞后都能使ＹＨＰＤ产生光敏作用即产生单态氧致使细胞膜上不饱和脂肪酸氧化因而表现出丙二醛含量上升，而经Ｘ线照射结合有ＹＨＰＤ的肝癌细胞无论是加大Ｘ线的照射剂量或加大ＹＨＰＤ的浓度都不能使丙二醛含量有所变化也即是Ｘ线不能使ＹＨＰＤ产生光敏作用。

上消化道癌光动力学疗法的现状与展望（摘要）

北京市肿瘤防治研究所

临床胃病研究室　金懋林　杨伯孪

本文介绍１９８６年４月３０日在日本东京召开光动力学临床应用国际会议情况，我国、日本、法国及澳大利亚等报告治疗上消化道癌计食管癌１３４例、胃癌１８７例，早期食管癌及早期胃癌ＣＲ＋ＳＲ[illegible]

85．3%，进展期癌有效率分别为41．4及53．7%。我国报告治疗贲门癌效果较好（有效率81．8%。各家使用光敏药物多数为HPD，采用氩离子泵浦染料激光，光能量200～300 J／cm²。

从国内外文献报告与本所五年来的治疗实践，提出本法治疗早期癌应慎重，因全身情况不能手术的早癌应首选本法。进展期癌本法适于病灶局限者，术后断端残留，局部吻合口复发及放疗后残存癌。不同产品HPD的疗效差别不大，光能量过小（＜100 J／cm²）疗效差，以200～250 J／cm²为宜。对进展期癌照射后应联合化疗。

两种国产血卟啉衍生物光敏作用原初反应机理的研究

陶能兵　徐国端　何润根　张志义

（中国科学院生物物理研究所　北京）

血卟啉衍生物（HPD）作为光敏化剂治疗癌症已取得良好效果。国产扬州光卟啉（YHPD）是我国自行研制的第二代卟啉类光敏药物，其性能优于美国第二代产品Photofrin Ⅱ和国内第一代产品北京血卟啉衍生物（BHPD），是迄今性能最好的卟啉类光敏剂。国内学者揭示，YHPD和BHPD均有产生 $^1O_2$ 的作用，但临床疗效高的YHPD却比BHPD的 $^1O_2$ 产率低。这揭示，HPD的光敏作用，不是单一的 $^1O_2$ 的作用机制，可能还存着更重要的其他瞬态活性物质形式的作用机制。

欲阐明这种机制，关键的问题是探明HPD光敏作用原初反应的特征，即除产生 $^1O_2$ 之外，还产生了哪些瞬态活性物质。本文本着这个目的，以YHPD和BHPD为对象，通过ESR近代技术研究其光敏作用的原初过程，并加以比较，以期说明，除 $^1O_2$ 作用外，还存着哪些活性氧的作用，以及由活性氧向非氧自由基机制的转变，为解积YHPD光敏疗效优于BHPD提供实验依据。

本文利用ESR新方法，包括测定$^1O_2$的ESR新方法，测定O_2^-和·OH的直旋捕捉技术，观测敏化剂阴离子自由基的消自旋和自旋捕捉方法，研究了YHPD和BHPD光敏反应原初过程的基本特征。

实验结果指出，从两种国产HPD，不仅都观察到$^1O_2$的产生，还观测到O_2^-、·OH及HPD-阴离子自由基的产生，这是为什么瞬态活性物质作用于靶物质而造成细胞损伤和致死，提供了直接的实验证据；由这些在光敏损伤中起关键作用的活性氧和自由基的特征判别，两种国产HPD的光敏作用，并不是单一的$^1O_2$的作用机制，而是$^1O_2$、O_2^-、·OH及HPD-等活性物质的多重作用机制；并且还观察到由活性氧机制向非氧自由基机制的转变；还应强调指出，通过比较发现，BHPD产生$^1O_2$的能力强于YHPD，而YHPD产生O_2^-和·OH的作用强于BHPD，根据临床应用的效果是YHPD优于BHPD，据此，我们认为，高活性的·OH可能在HPD光敏损伤中起重要作用。

竹红菌甲素光敏作用的原初过程

Ⅰ.产生活性氧的作用及其向非氧自由基机制的转变

张志义　臧伦义　徐国瑞　陶能兵　王大辉

（中国科学院生物物理研究所　北京）

竹红菌甲素（Hypocrellin A，简称HA）的分子式$C_{30}H_{26}O_{10}$，是从竹红菌（Hypocrella bambusae Sacc）中分离的主要有效光敏色素，属于苝醌衍生物，光疗某些皮肤顽症效果显著，具有我国特色，是一种优良的光敏药物。

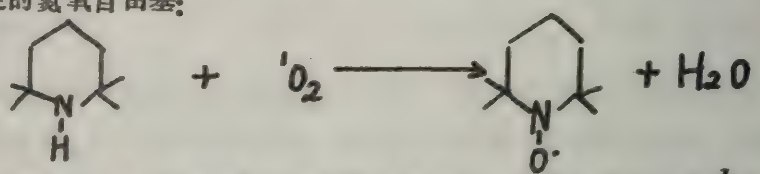
关于HA的光敏作用机理，现已查明，它的主要作用靶物质是细胞膜，除了$^1O_2$之外，还可能存在着其他瞬态活性物质的作用形式。本文采用ESR近代

技术，包括测定$^1O_2$的ESR新方法，观测O_2和·OH的自旋捕捉技术，探测阴离子自由基的消自旋方法，探讨了其光敏作用的原初过程，以期阐明HA的光敏作用机理。

HA由云南省微生物研究所提供；可见光照射光源选用卤钨灯，并滤掉紫外和红外线；使用Varin E－109波谱仪进行ESR测定。

1、活性氧（$^1O_2$，O_2和·OH）的测定。

1）$^1O_2$。HA光敏作用原初过程产生的$^1O_2$与空间受阻胺反应，产生一种稳定的氮氧自由基：

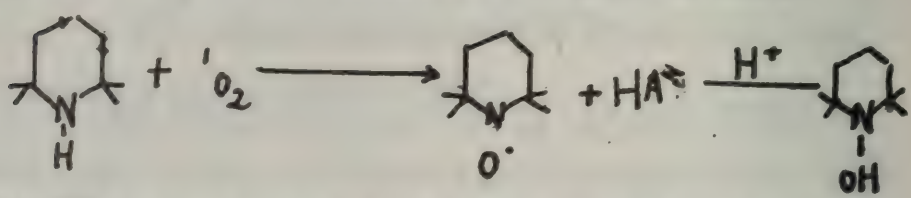


通过测定2，2，6，6－四甲基 啶－N－氧基的ESR信号，确定$^1O_2$的存在，并且通过缺氧实验、光照产生的与对照的2，2，6，6－四甲基啶－N－氧基ESR参数的对比，和产生$^1O_2$的其他光敏剂的比较，以及加入NaN3和在氧化试剂中对$^1O_2$产额的影响等实验，进一步证实HA光敏作用原初过程产生$^1O_2$的作用。

2）O_2和·OH。以自旋捕捉剂DMPO捕捉HA光敏反应原初过程产生的O_2及由$^1O_2$和O_2演变产生的·OH，通过ESR测定的DMPO－O_2和DMPO－OH自旋加合物的g因子和超精细分裂常数，推断O_2和·OH的存在，并通过加入SOD和·OH消除剂进一步确证它们的产生。

2、由活性氧产生向非氧自由基机制的转变。

利用测定$^1O_2$和HA 消自旋相结合的方法确定这一转变过程：



并且通过测定2，2，6，6－四甲基哌啶－N－氧基ESR谱线宽随光照时间的变化，确定上述转变的关键条件——实验体系中氧的耗尽。

本实验结果表明，HA光敏作用原初过程不只有产生$^1O_2$的作用，还

有产生O_2和·OH活性氧的作用，并且在氧耗尽的条件下，由活性氧产生向非氧自由基（HA^-和HA^+）作用机制转变。由此可见，HA的光敏作用是$^1O_2$、O_2^-、OH及非氧自由基的多种作用机制。

竹红菌甲素光敏作用的原初过程

Ⅱ. 产生HA^-和HA^+自由基的作用

徐国瑞　王大辉　陶能兵　臧伦义　张志义

（中国科学院生物物理研究所　北京）

竹红菌甲素（Hypocrellin A，简称HA）属于苝醌衍生物，是一种脂溶性光敏剂。关于它的光敏作用的原初过程，前文Ⅰ已报告了其产生活性氧的作用及其向非氧自由基机制的转变，作为Ⅱ，本文探讨了HA光敏作用原初过程产生HA^-和HA^+阴阳离子自由基的作用，它们均属非氧自由基。

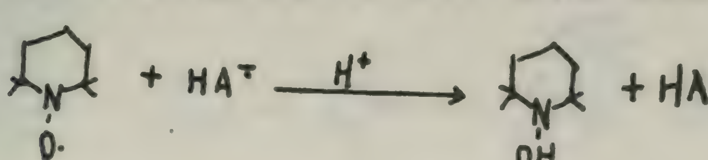
1、HA产生HA^-阴离子自由基的作用

为了证实在缺氧条件下HA光敏作用原初过程产生阴离子自由基HA^-的作用：

$$HA \xrightarrow{h\nu} HA^{*} \longrightarrow HA^{-} + HA^{+}$$

或$$HA \xrightarrow{h\nu} HA^{*} \xrightarrow{D} HA^{-} + D^{+}$$

选用消自旋的ESR方法，观测HA产生HA^-的作用，其反应式为，



通过ESR测定2，2，6，6－四甲基哌啶－N－氧基稳定氮氧自由基自

旋浓度的减少，便可推断出HA产生HA^-的作用。

试验在缺氧（通N_2）的DMSO溶液中进行。HA浓度为1.0×10^{-3}M；2，2，6，6－四甲基哌啶－N－氧基浓度是2.6×10^{-3}M；电子供体磷苯二酚浓度1.0×10^{-2}M，一种试验加入还原剂，另一种试验不加入还原剂，两种试验，如不加入HA，都没观察到消自旋。

实验结果指出，随着光照时间的增长，稳定氮氧自由基的浓度减少，并呈指数衰减，加还原剂的衰减更快。这意味着，产生$HA^{\bar{\cdot}}$的量随光照时间而增加，加入还原剂，由于提供了更多的电子，$HA^{\bar{\cdot}}$产额增加更多。以上结果表明，HA光敏作用原初过程，在缺氧条件下，确实产生了$HA^{\bar{\cdot}}$阴离子自由基。

2、HA产生$HA^{\dot{+}}$阴离子自由基的作用

$$HA \xrightarrow{h\nu} HA^* \longrightarrow HA^{\bar{\cdot}} + HA^{\dot{+}}$$

在HA光敏作用原初过程产生HA^-阴离子自由基的同时，也产生HA^+自由基。本文通过ESR测定，确实观测到$HA^{\dot{+}}$的存在。

在DMSO中实验，HA^+展现出非等强度的24重超精细分裂的ESR谱线。这种分裂均来自等价和非等价的质子分裂。g因子为2.0028，寿命相当长，是一种长寿命自由基。

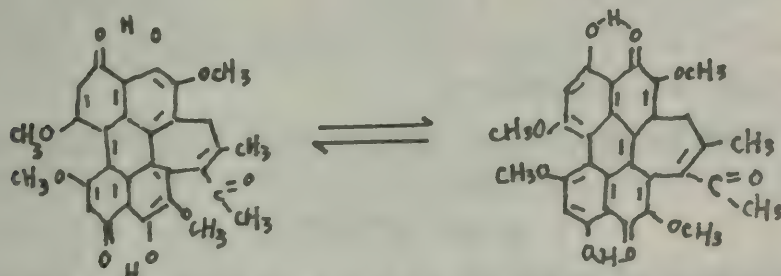
回消自旋的ESR方法，观测到HA^-的存在。与此同时，也观察到非等强度的24重超精细分裂的ESR信号，即HA^+的存在。这表明，HA^-和HA^+同时产生，平行存在。如加入电子供体磷苯二酚，则24重分裂的ESR信号强度减弱，这更加证实了HA^+的产生。若加入KI等三重态消除剂，HA^+ESR信号消失，这证实HA^+是由$^3HA^*$产生的。

竹红菌乙素光敏氧化四甲基取代尿酸反应的研究

王志军　蒋丽金

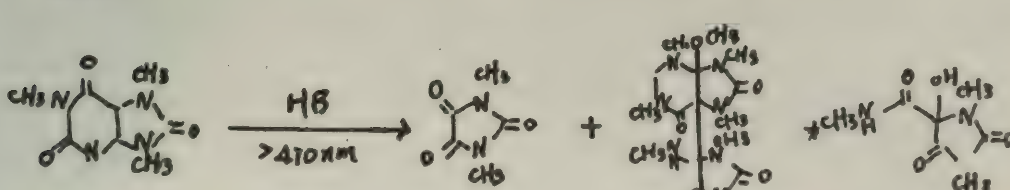
中国科学院感光化学研究所　北京

竹红菌是我国特有的一种寄生真菌，其有效成份——竹红菌素配合可见光对治疗某些疑难皮肤病如妇女外阴白色病变，疤痕疙瘩有显著疗效[1]。特别是最近给中国医学科学院肿瘤研究所在药理方面，通过S180瘤细胞接种的研究结果表明，竹红菌素有明显抑制细胞癌变的功能，并与血卟啉的光疗机制可能不同。竹红菌乙素（HB）是竹红菌中一种主要的光敏有效成分，其结构为：



为了了解竹红菌乙素对核酸的光动力作用，有必要研究竹红菌乙素对生物碱基的光敏氧化作用。我们发现对于N，N－1，3－二甲基尿嘧啶和N，N－1，3－二甲基胸腺嘧啶，以HB为敏化剂的光敏氧化反应不进行，而嘌呤类碱基的光敏氧化反应可以进行。我们以四甲基取代尿酸（TMUA）作为生物碱基的模型化合物，对此进行了详细的研究。并得到与其他工作者用别的敏化剂进行光敏氧化反应不同的结果[2、3]。

在氧饱和的甲醇溶液中，以HB为敏化剂，用大于470nm的光进行光解，浓缩反应液，通过薄层分离，可得三个主要产物，并且鉴定了产物的化学结构。



用循环伏安法测出$E_{TMUA^{+}/TMUA}=+0.840$ V

$E_{HB/HB^{-}}=-0.545$ V，在饱和的溶液中$E_{O_2/O_2^{-}}=-0.335$ V（以饱和AgCl为参比电极），HB的三线态能量估计在40 kcal/mol，通过热力学计算[4]：

$$^{3}HB+TMUA\longrightarrow TMUA^{+}+HB^{-}$$

$$HB^{-}+O_2\longrightarrow HB+O_2^{-}$$

这两个过程$\Delta G<0$，说明在反应体系中能产生O_2^{-}。

猝灭实验也得到同样结论。单重态氧的猝灭剂DABCO（1，4－二氮代二环〔2，2 2〕辛烷），丁硫醚和·OH的猝灭剂乙醇和异丙醇不猝灭反应，而游离基的猝灭剂NDA（对亚硝基－N、N－二甲基苯胺），猝灭反应。

由此可以证明HB光敏氧化TMUA的反应是通过敏化剂HB产生O_2^{-}，然后O_2对TMUA作用生成产物。

生物碱基另一模型化合物——咖啡因的光敏氧化反应正在研究，并取得一定进展。

参考文献

1、梁睿媛等，中华皮肤科杂志，15，2：88。（1982）。

2。T. Mastuura，I. Saito，Tetrahedron，24，6609，（1968）

3。T. Mastuura，I. Saito，Tetrahedron，25，541，（1969）。

4。J. Eriksem，C. S. Foote，J. Am. Chem. Soc，102，6083，（1980）。

^{31}P NMR技术研究Photofrin Ⅱ对DNA的光敏损伤

陈凤英

（中国科学院　生物物理所）

摘　要

本工作用^{31}P核磁共振（NMR）技术研究DNA分子在与光敏药物结合过程中所引起的构象变化。大量报导指出，DNA的^{31}PNMR共振峰的化学位移值反映了DNA分子构象，而NMR共振峰的峰宽则反映DNA分子与药物结合的多寡和分子运动的状况。

实验用小牛胸腺DNA经物理降解使其分子在500b.p以下。光敏药物为血卟啉类化合物Photofrin Ⅱ（美国进口）。实验溶液PH7.6。

当DNA溶液加入Photofrin Ⅱ后，DNA的NMR共振峰产生0.25PPM的高场位移，共振峰线宽由单独DNA分子的129.4Hg增至160.6Hg。当用一定能量的白光照射药物－DNA复合物，DNA共振峰继续向高场位移（0.24PPM），但峰宽却大幅度下降至102.2Hg。

这种现象可考虑为由于药物嵌入DNA分子，引起DNA分子双螺旋构象局部解旋，分子中磷酸乙酯键和扭转角均发生改变。同时也由于药物的结合使整个药物－DNA分子在溶液中的整体运动速度减慢，致使峰宽增加。

光照后的现象暗示光照促进药物对DNA分子的解旋作用，使DNA构象进一步改变，扭转角变化加剧发生磷酸二酯键断裂和乌嘌呤碱基脱落，溶液中出现较小片段DNA分子，加快了分子运动速度，使峰宽变窄。

由此可见，光照敏化了Photofrin Ⅱ对DNA分子的作用，使DNA分子的损伤加深。

激光照射穴位治疗动物腹泻症的机理

吴　建

（河北农业大学　动物生化室）

近几年来，应用CO_2激光和He——Ne激光照射动物穴位治疗动物（驴、猪和兔等）腹泻症，疗效显著，方法简便，无付作用，且疗程短。有关的研究人员正在以机体、细胞和分子水平研究并探讨激光照射穴位治疗动物腹泻症的机理。

用CO_2激光（λ=106000Å）照射动物（驴）穴位可引起动物血清蛋白电泳值的变化。其中白蛋白电泳值在照射前为28.87±6.85%，照射后，48小时出现峰值为31.00±5.33%（$P<0.05$）。Y球蛋白电泳值在照射前为43.47±8.31%，照射后，48小时出现峰值为48.11±7.91%（$P<0.05$）。同时，白细胞也显著增加。从而使机体的免疫机能增强。

用CO_2激光和He——Ne激光照射动物穴位，经一个疗程后，发现动物肝细胞的功能增强。肝细胞内核糖核酸（RNA）和脱氧核糖核酸（DNA）的含量明显增加。

用He——Ne激光（λ=6328A）照射穴位，可提高动物的痛阈值，有镇痛解痉作用。通过注射吗啡受体阻断剂纳洛酮对激光提高痛阈的抑制作用，证明激光照射穴位的镇痛作用是吗啡样物质释放的结果。

本文还探讨了激光照射动物穴位对动物胃肠肌生物电兴奋和抑制的调控作用及其在治疗动物腹泻症上的意义。从而为应用激光照射穴位治疗动物腹泻症提供了科学依据。

血卟啉脂质体的荧光光谱研究

李　路*　严学明

（中国科技大学　结构中心　合肥）

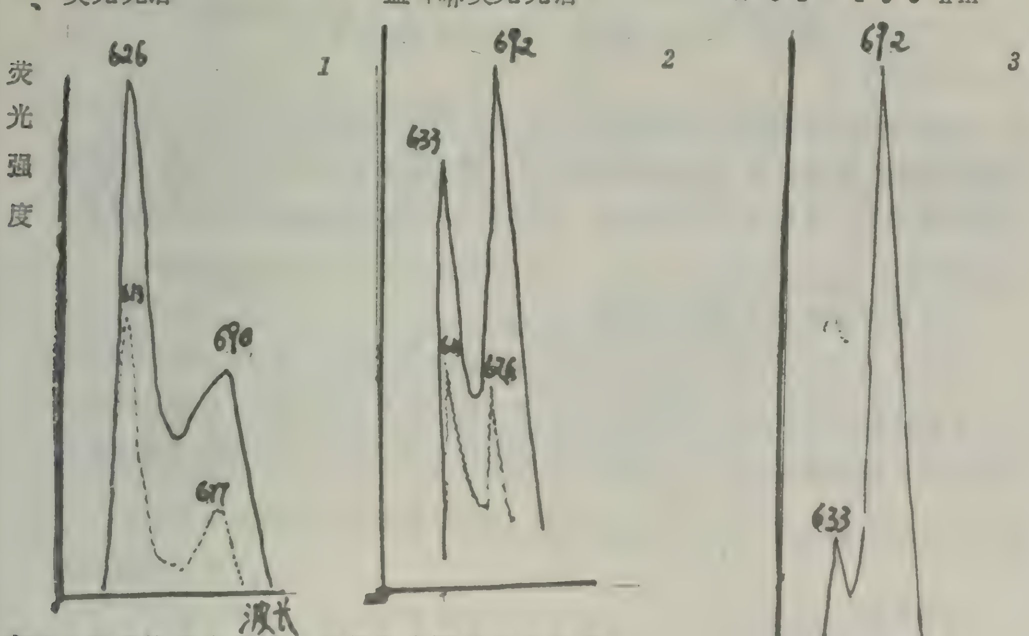
血卟啉及血卟啉衍生物因在肿瘤细胞中有集聚作用和光敏作用。已作为一种新的抗癌药物用于临床。脂质体作为一种“定向导弹”，特别是用于癌症的治疗，已引起了重视。

现已发现血卟啉结合脂质体对癌组织的定位能力大于未和脂质体结合的血卟啉。本文从荧光光谱研究了血卟啉结合的脂质体与血卟啉的差别，并比较了二者的稳定性和产生单态氧的能力。

实验

卵磷脂制成干膜，将含不同血卟啉浓度的 PBS缓冲液加入、振荡、同时，用PBS缓冲液配制相应浓度的血卟啉水溶液。

一、荧光光谱　　血卟啉荧光光谱　　λ es = 405 nm



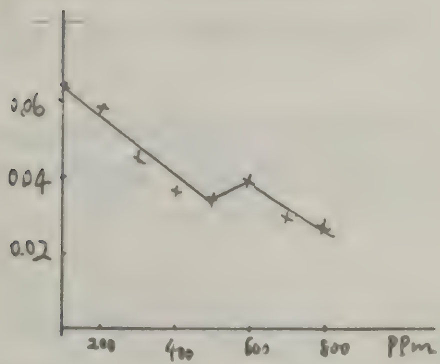
实线为脂质体荧光光谱　虚线为水溶液荧光光谱

1 血卟啉浓度为 400ppm　2、血卟啉浓度为 500ppm　3、血卟啉浓度为 800ppm

从上图可看出：血卟啉与脂质体结合后，当血卟啉浓度小时，613nm峰

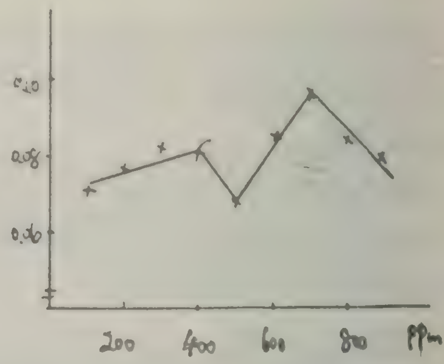
* 通讯联系人　（地址：合肥中国科大研究生公寓602号）

红移到626nm，血卟啉脂质体荧光光谱中看到677nm峰红移至690nm。血卟啉浓度增大后，其PBS溶液中发射峰极弱，是形成了二聚体的原因。而血卟啉脂质体的发射峰在一定的范围内增加，只是633nm峰相对于692nm峰减弱其变化趋势为：



血卟啉浓度

633nm随浓度的改变



血卟啉浓度

692nm随浓度的改变

二、稳定性研究：

血卟啉水溶液黑暗状态下室温放置，其荧光强度逐渐减弱，且582nm峰逐渐增强，生成了NPS（新卟啉物）。卟啉脂质体与血卟啉比较，其荧光强度减弱很慢，也没有新的峰出现，说明血卟啉脂质体的稳定性比血卟啉在PBS中的大。

三、色氨酸降解法测单线态氧产率：

从该实验可以看出血卟啉脂质体的单线态氧产率大于在PBS中的血卟啉。

血卟啉脂质体不仅对肿瘤细胞的亲合力强，而且其稳定性，单线态氧产率均优于血卟啉水溶液。因此用脂质体作为载体与血卟啉结合后使用是很有前途的。

参考文献

1、Bejamin Eurenbery, et、al; Photochem Photobiol、41(4), 1985

2、Johan Moan; Photochem Photobial、39(4)、1984。

3、马海官、李新源、生物物理学报 2(1)1986。
4、D、A、Tyrrel; et、al; Biochim、Biophys、Acta、457、1976
5、Francis Szoka; et、al; Biochim、Biophys、Acta、601, 1980。

不同血卟啉和细胞膜结合能力的研究

严学明 李 路
(中国科技大学 结构中心 合肥)

血卟啉是一种有效的抗癌光敏药物，血卟啉注入人体后，多聚集于癌细胞，当用632nm波长的激光照射时，发生光动力反应，产生单线态氧，自由基等活性中间体，杀伤癌细胞。

血卟啉的抗癌作用由两个因素决定，一是产生活性中间体的能力，检测方法有多种已采用；二是血卟啉分子与癌细胞的亲合能力。

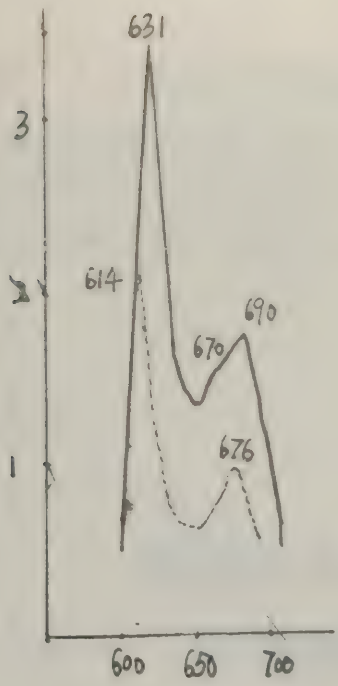
已发现血卟啉的分子结构与细胞膜的结合能力有很大关系，它先与膜表面结合，使膜损伤而杀伤癌细胞，血卟啉分子侧链基团不同使血卟啉与膜表面结合能力也不同。

我们以卵磷脂脂质体代替细胞膜，研究其荧光光谱，比较不同血卟啉与脂质体的结合能力。

脂质体的制备用超声法得SLV，血卟啉用PBS缓冲液配制。

从荧光光谱发现，血卟啉与脂质体结合后其荧光发射峰发生位移。

* 通讯联系人(地址：合肥 中国科大 研究生公寓602号)



Ⅱ号样品在脂质体中的发射光谱

λex＝405nm

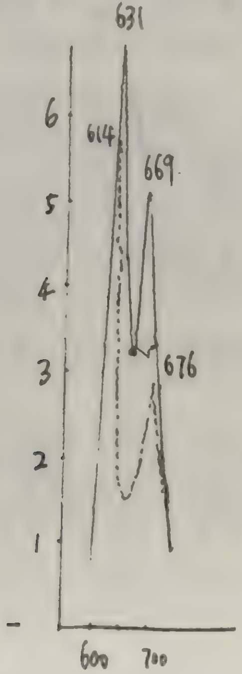
（虚线是在PBS水溶液中光谱）

血卟啉浓度：3ppm

脂质体浓度：10mg／ml。

发射峰强度与脂质体浓度，血卟啉浓度，DH值、离子强度等因素有关。

脂质体浓度为2mg／ml，血卟啉浓度25ppm，比较五种血卟啉与脂质体结合的荧光光谱，PH分别为6．5、8将血卟啉加入脂质体溶液，放置20min。



样品Ⅰ的荧光光谱图

虚线为水溶液

614nm峰移向631，说明脂质体与血卟啉已结合。

五种样品中有两种血卟啉与脂质体作用20min后614

峰无位移，说明未与脂质体结合。

血卟啉在脂质体溶液和水溶液中的荧光强度分别为F、F。

		I	II	Ⅲ
F／F	PH 6.5	1.13	1.291	1.28
	PH 8	0.85	1.29	1.11

F／F 代表血卟啉和脂质体的亲合能力，可以看出，弱酸性时的F／F大于弱碱性，而且荧光强度也是如此。

通过比较不同结构的血卟啉在脂质体和水溶液中的荧光强度，找出与脂质体结合能力比较强的血卟啉药物，使它在弱酸性的癌细胞中有更多的聚集。

参考文献

1、Benjamin Eurenberg，Zui Malik cmd Yeshayahu Nitzan; Photochem Photobiol，bid(4)，(1985)。

2、Rimona Margalit and Smadar Cohen. Biochim，Biophys Acta 736、(1983)。

3、Daniel Braulf，Christino Vever-Bizet and Traug Le Doan Biochim Biophys Acta、857 (1986)

4、Johan Moan．Photohem Photohiol 43(6)(1986)。

5、林青松等，应用化学 5(1) 1988

某些物化因素对甲素致敏的乙酰胆碱酯酶无敏失活的影响

孙继山　程龙生

（中科院生物物理研究所　北京）

竹红菌甲素是一种苝醌类光敏化剂，目前在临床上治疗某些皮肤疾病，本文是研究某些物化因素，如敏化剂浓度，PH，温度、光强、光波长，氧浓度等对甲素致敏的乙酰胆碱酯酶（AchE）光敏失活的影响以及失活机制的初步探讨。与多数敏化剂相比，甲素有以下独特之处：①作用光谱比较宽，在400—600nm范围内均有较强作用。②甲素致敏能力随PH下降而上升，在PH 5－7范围内，光失活速率与氢离子浓度呈正相关线性关系。③光失活速率与光强的1。3次方成正比。此外，升高温度甲素作用增强，根据Arrenius图计算AchE失活化能为26。3kj/mol，AchE的失活速率与甲素浓度平方根成正比。在氧气中甲素作用比空气中强。猝灭试验表明：AchE的光敏失活主要是由$^{1}O_2$引起的，羟自由基和超氧阴离子自由基对酶失活也有一定贡献。

竹红菌甲素对人红细胞膜骨架蛋白光敏损伤的初步研究

孙继山　鲁崎峿　程龙生

（中科院生物物理研究所　北京）

本文使用SOS——聚丙烯酰胺凝胶电泳和冰冻蚀刻电子显微镜方法研究了竹红菌甲素对膜骨架蛋白的光敏损伤，结果表明，即使在较低浓度的甲素作用下，膜蛋白也产生交联，高分子聚合物随溶液中甲素的量及光照时间增加而增加。光照初期，巯基氧化形成的二硫键对交联贡献较大，但光照后期非二硫

键共价键也参与交联。膜结合收缩蛋白比游离收缩蛋白敏感。膜蛋白中，对甲素最敏感的是条带（4.1+4.2）其次是，带4.5，带（1+2），带（7），带（8），带（6），带（3）。电镜观察表明：封闭血影比血球容易发生光敏交联，而未封闭血影又比封闭血影敏感。甲素对膜蛋白的作用大于胶质大白。在相同甲素浓度下，低比容血影（或血球）比高比容血影（或血球）容易发生光敏聚集。

竹红菌甲素对膜流动性影响的研究

杜 健 程龙生

北京 中国科学院生物物理所

竹红菌甲素（Hypocrellin）是从我国一种寄生真菌（Hypocrella Lam Lusac Saec）中提取出的光敏化剂，用来治疗某些皮肤痛变，程龙生实验室围绕竹红菌甲素的光敏生物学效应已做了大量工作。

在此论文中，我们应用了系列荧光分子探针〔N-（9-Anthroyloxy）fatty acids〕标记于膜不同深度，以研究竹红菌甲素对膜流动性的影响。为验证膜中脂类与蛋白的相互作用，我们应用了四种膜形态：1）完整红细胞膜，2）去掉部分骨架蛋白的红细胞膜，3）红细胞膜类脂形成的脂质体，4）单一磷脂形成的脂质体。

单一磷脂（DPPC/DPPE，0.5mm）在HA（0.3mM）存在下光照时，荧光偏振度减小最为剧烈，红细胞膜类脂（0.5mM）形成的脂质体次之，完整红细胞膜在HA（0.05mM，0.1mM，0.2mM）存在下光照时，首先是偏振度增加，随着照射时间的增长，偏振度又呈下降趋势。去掉部分骨架蛋白的红细胞膜在HA存在下损伤呈现的上述情形较弱，说明在HA存在下损伤呈现的上述情形较弱，说明在HA引起的脂质过氧化过程中，骨架蛋

白与类脂有相互影响，对荧光偏振度的变化，也就是膜流动性的变化，起着相当重要的作用。

加入脂溶性保护剂VE和水溶性保护剂BHT后，HA引起的偏振度变化显著减小，说明HA产生的 $^1O_2$，O_2 和 OH 自由基反应对脂质过氧化过程可能在脂相和水相均有作用。

UV—N光量子的生物学效应治疗银屑病机制研究

黄孟才　杨　立

苏州大学

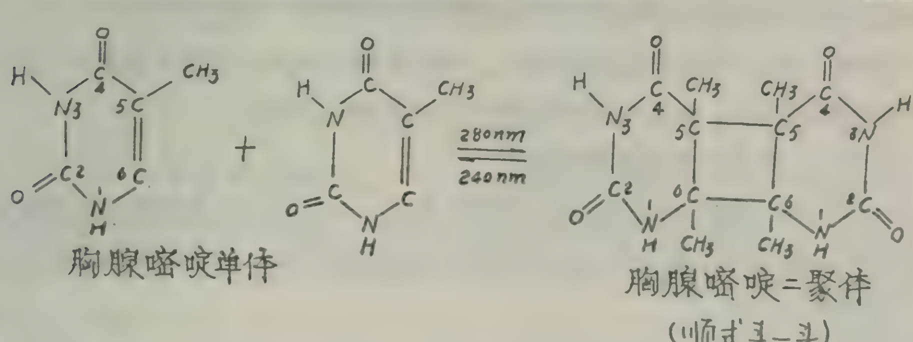
除了高频率、高强度的超声场以外，不采用任何药物治疗牛皮癣（Psoriasis）之类的皮肤病的有关报道至今尚未见发表，因此探讨有关光量子来而引起的光生物效应的基本因子是很有价值的。

牛皮癣的特征是表皮细胞周期短，DNA合成速度快。为了使DNA的合成受到抑制，从而促使表皮细胞的病理性分裂周期减慢来达到皮疹消退。虽然人们采用PUV—A光化学疗法对牛皮癣治疗获得了实际的、令人满意的疗效，但其治疗机制尚不完善。鉴于这一问题，本文试图探讨以特定波长和特定能量密度的UV—N光量子束对牛皮癣表皮细胞DNA的作用所引起的量子生物学效应。

（一）胸腺嘧啶=聚体的形成

紫外光的作用使DNA中含有的嘧啶衍生物发生聚合作用。在众多的嘧啶=聚体中，胸腺嘧啶=聚体是特别重要的，因为它将直接抑制DNA的功能，它与生物体作用之间的关系十分密切。

胸腺嘧啶=聚体的形成在波长为280nm处（UV—B段）的光照射时效率最高，而在波长为240nm处（UV—C段）的紫外线照射下却又分解成原来的单体，即：

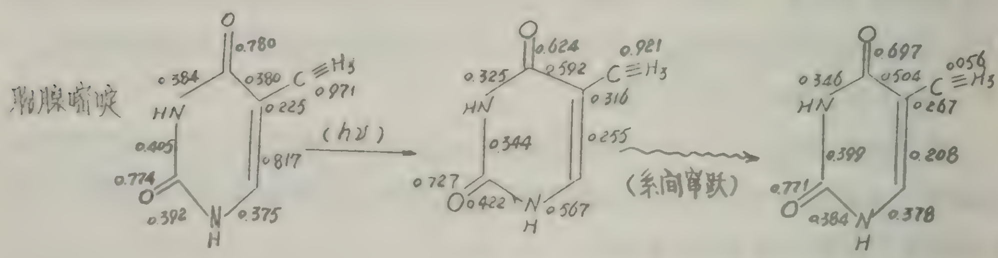


这就是说，DNA在280nm波长的紫外线照射下失活，而在波长为240nm照射下活性恢复。考虑胸腺嘧啶=聚体作为一个共轭体系，根据分子轨道微扰理论可计算得胸腺嘧啶生成=聚体的非定域能为0.701β（16.20Kcal/mol），这即可作为=聚体生成能的尺度判别。

对于胸腺嘧啶=聚体的形成可归纳成以下四点：

1）由于光量子辐射，胸腺嘧啶分子被激发，激发一个电子，生成两个不成对电子。鉴于不成对电子的分布，使5、6碳—碳键的π电子密度增大，促使亲电反应加速而导致二聚体的生成。

2）由于胸腺嘧啶受光量子辐照，从基点到激发单重点时，经系间窜跃出激发三重点，使5、6双键的π电子键级显著减小（如图）。作为双键尺度的π电子键级越小越容易形成二聚体，所以，胸腺嘧啶二聚体的形成是通过激发三重点的。



3）作为胸腺嘧啶二聚体生成能的尺度是由胸腺嘧啶激发过渡态的非定域能大小而定，二聚体形成时非定域能与稳定能具有很好的一致性。

4）嘧啶二聚体的形成与其构型有关。胸腺嘧啶二聚体的构型是以顺式（头—头）结构最容易生成，因为它的稳定能相对同类异构体要高。

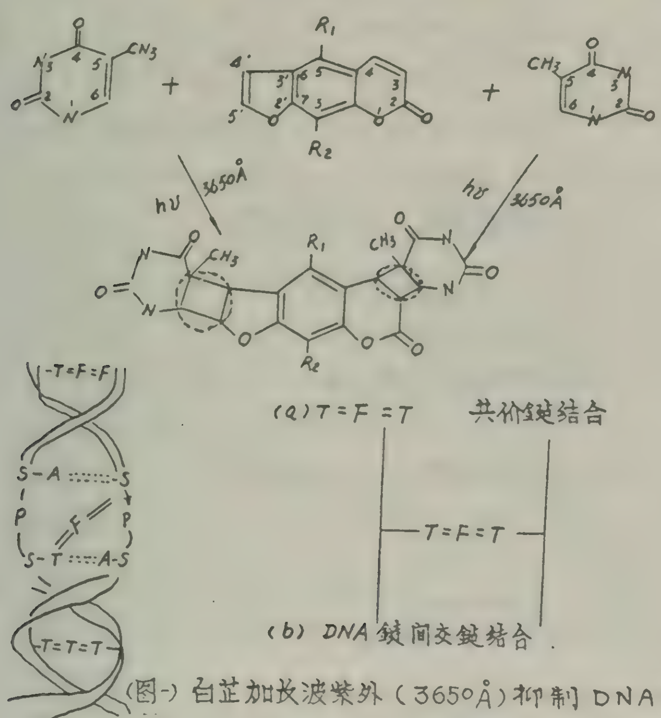
（二）UV—N光量子的生物学效应

UV—N光具有特定波长的光量子密度的特征。在UV—N光辐照生物体时，由于其光量子的能量密度符合于生物分子所吸收的能量要求，因而容易引起它与生物学作用间的各种效应。

目前我国广泛采用的光谱波长峰值为365nm的黑光灯照射治疗牛皮癣过程中，由于黑光灯光谱能量分布在365nm处的量子密度较小，即黑光灯的辐射强度较弱，在一般情况下不易引起光化反应而需借助光敏剂（8—MOP或白

芷 3号）之类的药物吸收光能后传递给邻近的生物分子，增强其对光能的反应力，这就是所谓的光敏化效应。

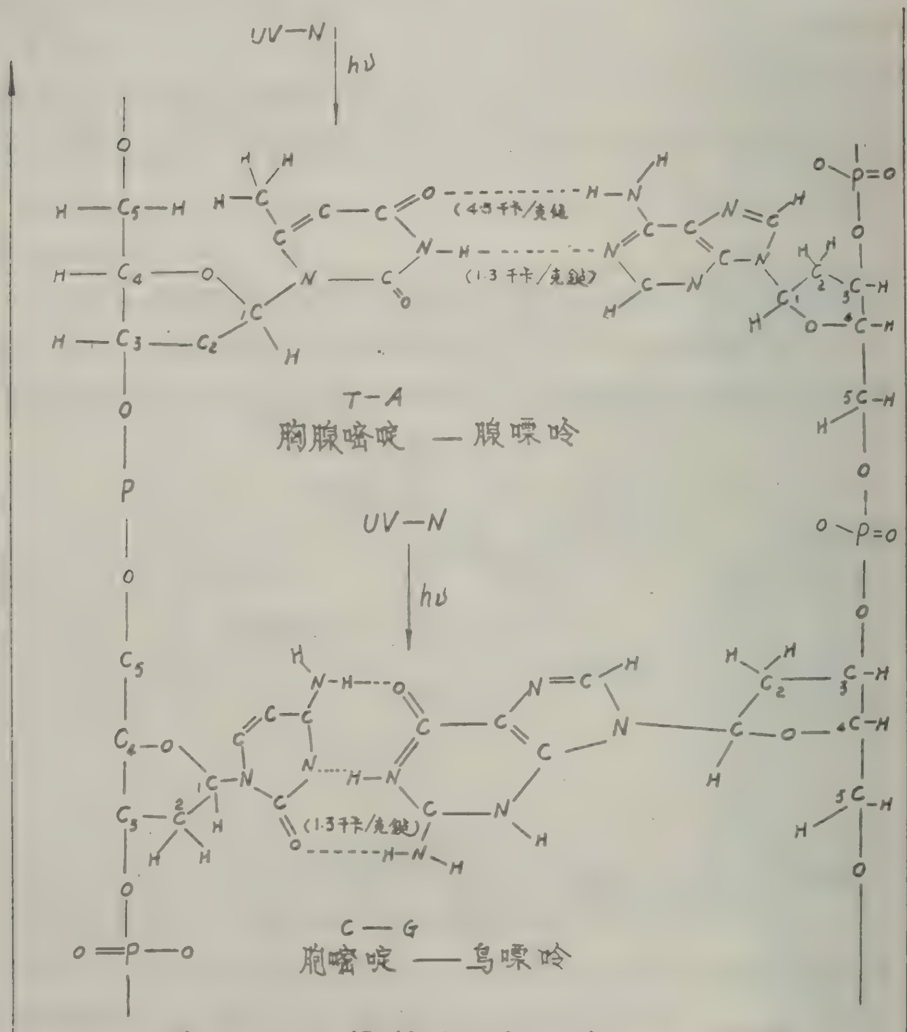
采用波长为365nm的长波紫外线（UV—N）去照射内服8—MOP（或白芷3号）的牛皮癣患者，结果发现光敏药物吸收UV—光能后与细胞内DNA上的胸腺嘧啶（T）产生光敏化反应，并在（T）的5、6双键位与光敏药物的相应键位发生共价键结合而形成逆平行的彼此缠在一起的DNA双螺旋。由于DNA两条单键不能及时分离，故使DNA复制受到抑制。（如图一）



(图一) 白芷加长波紫外（3650Å）抑制DNA合成机理.

PUV—A光化学疗法指出，“只有光敏剂物质和UV—A两种因素加在一起时才能使DNA受到抑制，两者缺一则无抑制作用”。对于这一机制，有必要进一步探讨。光敏剂之类的物质仅仅充当能量的传递者，而不直接参加光敏化反应。这就是说，黑光的特征光谱及其光能密度均未符合被照射的物质分子内某基团需吸收光能的要求，而必须借助于光敏剂的物质来增加对光能的吸收。所以如果我们选取一特定波长的UV—N光量子来並具有足够的光能密度去辐照生物分子（如牛皮癣表皮细胞），当吸收一定量的光能时，将引起表皮细胞DNA

内侧的嘌呤和嘧啶碱基之间连接的氢键（如O…H—N，N—H…N）部分发生断裂的可能（如图二），在UV—N光量子来辐射下使DNA内侧的T—A，G—C间连接的氢键发生断裂的强相互作用。



（图二）UV-N 辐射在DNA上使O……M断裂

这种由于光量子而引起生物分子间的相互作用是依赖于辐射光的波长，依赖于辐射场的强度，还依赖于生物分子的特征以及它们与相邻分子的相互作用。

UV—N光量子辐照牛皮癣的特征是：不使用任何光敏剂药物单用UV—N光量子束辐照，使牛皮癣表皮细胞内DNA上的胸腺嘧啶（T）与腺嘌呤（A）及胞嘧啶（C）与鸟嘌呤（G）之间连接起来的氢键受到UV—N光能的强相互作用而发生断裂，由此而抑制表皮细胞的增生和DNA的合成作用。

（三）结论

UV—N光源的产生是从PUV—A光化学疗法进化而来的，它克服了PUV—A光化学治疗过程中由于病员内服光敏剂药物对人体造血机构的付作用。本文从物理学和分子生物学的相互作用出发，设计了一种具有特定波长和特定光能密度的UV—N光量辐照系统，其辐射场的光能密度约为黑光灯的10000倍。该体系经过全国几十家医疗单位的临床试验疗效显著，並在整个疗程中，对患者做了血相、尿常规、肝功能等检查，至今尚未发现异常现象。

主要参考文献：

1. B and A. Pullman "Quantum biochemistry" (1963)
2. 永田亲羲 "量子生物学入门" (1979)
3. M. J. S Dewar "The molecular orbital theory of organic Chemistry" (1969)
4. C. Sybesma "生物物理学引论" (1979)
5. W. O. Foye "Principle of Medical Chemistry"
6. Pchandra. W. Apple "分子生物学方法" (1979)
7. R. Rein and J. P. Harles "Moleclar orbital Studies in Chemical Pharmacology" (1970)
8. A. A Lamola and J. P. Mital Science 154, 1560 (1966)
9. B. Pullman "Photoehem. photo biol." 7. 525 (1968)

A study on the Treatment of Psoriasis by the Technology of UV-N Photon Quantum

Huang Men-cai Yang Li

(Suzhou University)

ABSTRACT

UV-N photon quantum is specific thereapy technology for Curing Psoriasis without any photoactive medicament. Specific wavelength of photon quantum beam is chesn. According to biological effect of photon quantum to radiate focus of Psoriasis to toproliferate cell of psoriasis position and reduced velocity of DNA synthesis, improve normal suppersession function of human body to achieve Curing Object. Due to without any photoactive medicaments. This therapy eliminate chemical medicaments cause by-effect during treatment processing without any unpleasant to patients.

Since 1979 passing 950 medical record clincal observing effieiency up 98.23% and proving this modus is useful new therapy for Curing Psoriasis. Obvious features are high curative effect, quickacting, treament convenience, operating simplicity, in especial, without any photoactive medicaments. This therapy technology is optimum treatment for Curing Psoriasis at international currently.

Key words: Psoriasis; Photon Quantum;
Photobiological; photosensitized effect;
Photosensitized reaction.

正常人和肿瘤患者尿液的光声光谱研究

孙洪伟　黄孟才　王钦华　钟　权

（苏州大学）

吴万春

（苏州医学院泌尿科）

一、引　言

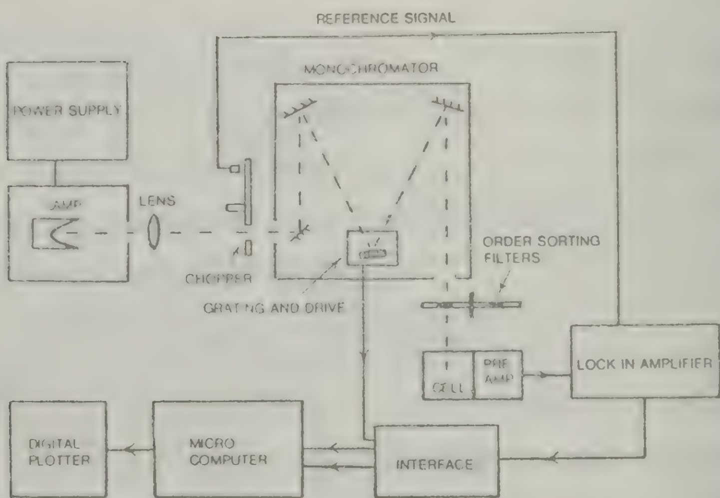
光声光谱技术（photoecoustic spetroscopy）是近几年发展起来的新的检测技术。它通过检测光声效应、研究物质的吸收性质。所谓光声效应。实质上就是调制光能转变成热能。热能又转变成声能的过程。当一束强度以频率 f 调制的光束。$I=\frac{1}{2}I_0(1+\cos\omega_0 t)$ 照射到一个密闭的光声池中的物质上时。物质分子吸收光能。而且通过无辐射跃迁的驰豫过程部分或全部地转变成热能。由于光强是调制的。故样品内的加热也是交变的。因而在样品中产生了交变热源。也就是说。当一强度调制的光束照射某生物样品时。样品因吸收光能而产生一周期性的热流注入光声池内的气体。于是产生了频率为 f 的声波。这个声波被一个高灵敏的微音器检测。这就是光声信号。它反映了物质的吸收性质和热学性质。[1]

光声光谱技术不但具有一般吸收光谱技术的共同特点。而且还具有独特的优点。它可以测量高反射、强散射、弱吸收样品。样品形式不拘。另外。由于样品不需经过复杂的预处理。所以。它对生物组织和生物体液的研究具有很大的优越性。而且可以迅速而准确地提供从紫外到可见区的吸收信息。光声光谱技术正在生物、医学的研究中发挥越来越广泛的作用。由于它能得到传统光谱方法较难得到的物质信息。所以。它正成为生物研究、医学临床诊断的有力工具。由于尿液是人体各种代谢如蛋白质代谢、核酸代谢的主要产物。它是由血液通过肾脏而生成的。又经输尿管和膀胱排出体外。尿液的组成和性质能够反映出人体各种代谢器官的情况。人体器官的病变会引起代谢的异常。而这些在尿液的成份结构中得到体现。在长期的生物化学研究中。人们已积累了尿液的组成和人体疾病联系的大量资料。[2] 由于测试方面的原因。某些结论在临床上得到应用还有一定的

困难。我们正是根据光声光谱技术的特点，寻找肿瘤病人尿液吸收性质的异常，通过大量积累资料，为早期临床诊断提供可靠而且较易获得的依据。

二、实验方法

我们采用美国 EDT Research 的 OAS 400MK-Ⅱ光声光谱仪，其原理图如下所示：



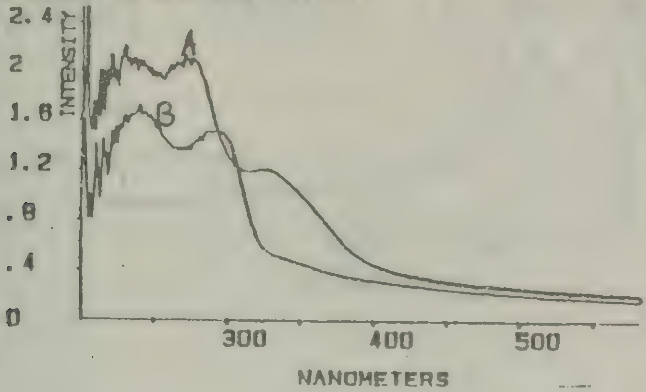
BLOCK DIAGRAM OF OAS 400 MKII

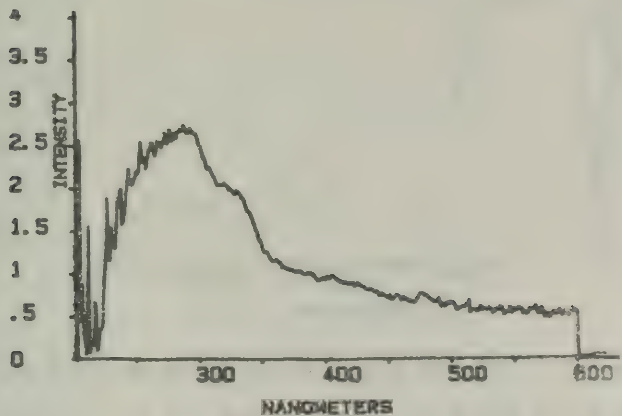
样品均由苏州医学院附属第一医院泌尿科提供，共测试病例90例。尿液样品选取经过高速离心沉淀的尿液，将其滴于滤纸上。为了防止因样品不均匀而造成的误差，我们分别选取滤纸表面不同部位的样品，重复测试，取其平均效果。

三、结果和讨论

我们首先通过一定量的测试得到了正常人尿液的光声光谱，由于仪器的高灵

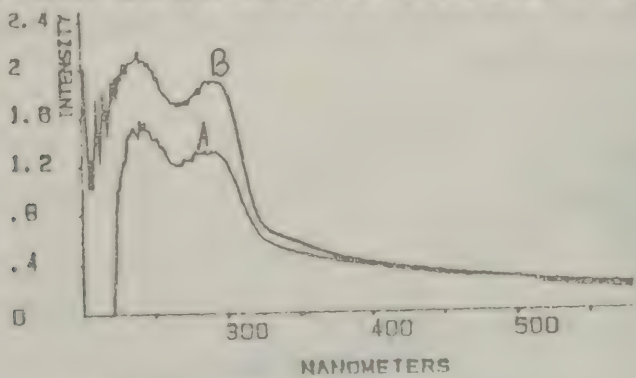
敏度和抗干扰能力。这个从15例中得出的结果是可靠的。并已成为整个诊断方法的基础。同时。我们又选取已确诊为泌尿系肿瘤的患者的尿液进行测试。共28例其显示出的异常特征在各病例的测试中是基本相同的。如图二所示。从结果中可以看出：肿瘤病人的光声谱在280—290nm处的峰和正常谱相比发生了红移。并且在330nm处有一特异的吸收峰。这是区别正常与否的重要标志。它的峰值大小和肿瘤的大小和数目也有一定的关系。由于280nm—290nm是蛋白质吸收带。它的异常变化是蛋白质代谢异常的结果。330nm左右的特异吸收峰可能和癌变组织及其特殊的分泌物有关。为了证实这一点。我们选取了5例的癌变组织（用福尔马林固定）。其光声光谱图如图三所示：

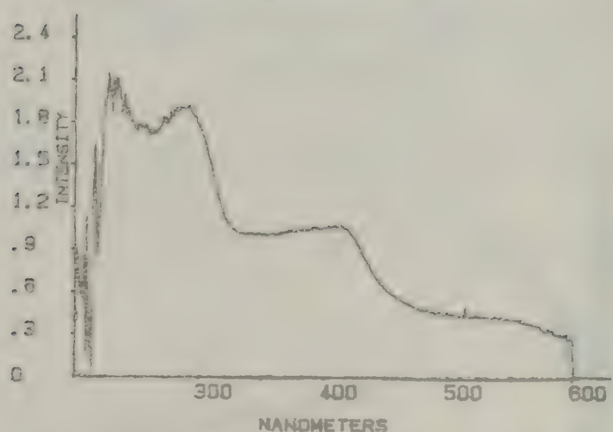




从图二和图三的比较中。我们可以看到肿瘤患者尿液光声谱和癌变组织光声谱在330nm处具有相同特征。这说明了它们之间的相互联系。我们认为：产生这种特征吸收的物质可能是人体代谢异常的产物。至于它是何种物质尚待研究。不过。它即能向我们提供人体代谢异常的信号。而且具有很高的灵敏度。我们在测试过程

中。还发现10例常规瘤细胞检查正常。而无声谱异常。并且经手术病检确诊为癌症的病例。其它瘤细胞检查异常的病例。光声谱全部异常。符合率达100%。这些都是由于常规的瘤细胞检查法只能寻找瘤细胞。而利用光声光谱技术。却能发现癌变组织及其分泌物的异常特征。这就使它具有更高的灵敏度及可靠性。图四是癌症患者经过手术后的尿液光声谱和正常人尿液光声谱的比较。可以看出：手术后的谱图和正常的谱图基本相似。这说明手术后人体代谢已趋于正常。这与手术切除的效果是一致的。这样前后比较的病例。我们共测试了20对。从中我们可以看出





手术的情况。并且这种方法已被用来监测手术后是否有肿瘤复发的现象。由于泌尿肿瘤患者大多带有血尿及炎症。这些在光声光谱图上都会得到体现。如图五所示。410nm左右的吸收峰是卟啉类化合物的特征吸收峰。这说明。光声光谱特别能灵敏地反映出尿液中有无红白细胞。并且其数量也能得到体现。这样的病例共测试18例。

从我们积累的大量病例中，可以看出，利用光声光谱检测尿液的性质，并用于诊断泌尿系肿瘤及其它疾病，具有灵敏度高，方法简便，结果明显的特点。并且从用于临床诊断的情况来看，准确性较好，尤其对于膀胱癌和肾癌。因为尿液是全身代谢的终产物，我们可以预计，其它器官的病变也能在尿液中得到体现，我们已发现其特征，但仍然需要大量地积累。总之，光声光谱方法可以成为早期肿瘤临床诊断的有力工具，可以广泛应用于大规模普查。

参 考 文 献

〔2〕《医用生物化学》 科学出版社 1978版 P345—400

〔1〕Yoh — Hao Pao OPtoacoustic sPectroscopY and Detection ;Academic Press NeW York san Fransico London 1979

植物绿叶对光的吸收规律的实验研究

唐建民　傅昌余　王礼兵

（第三军医大学物理教研室）

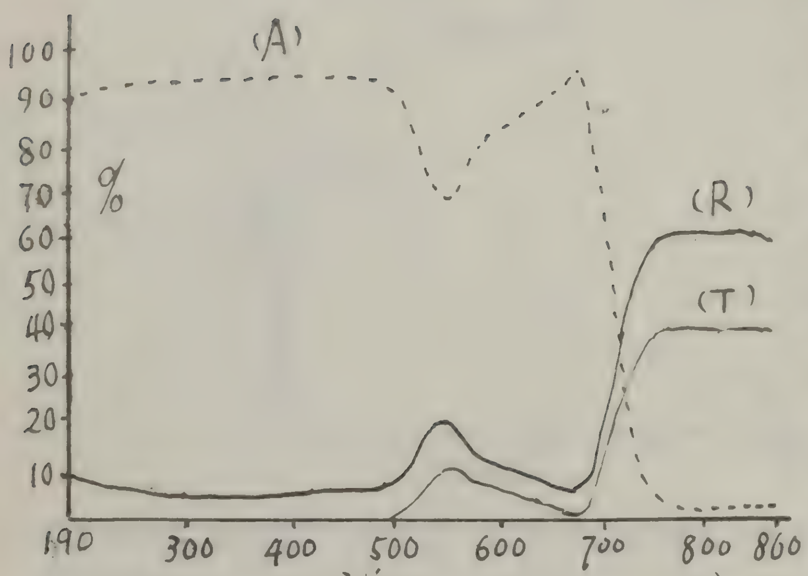
刘代玺

（第三军医大学生物教研室）

陈祖林

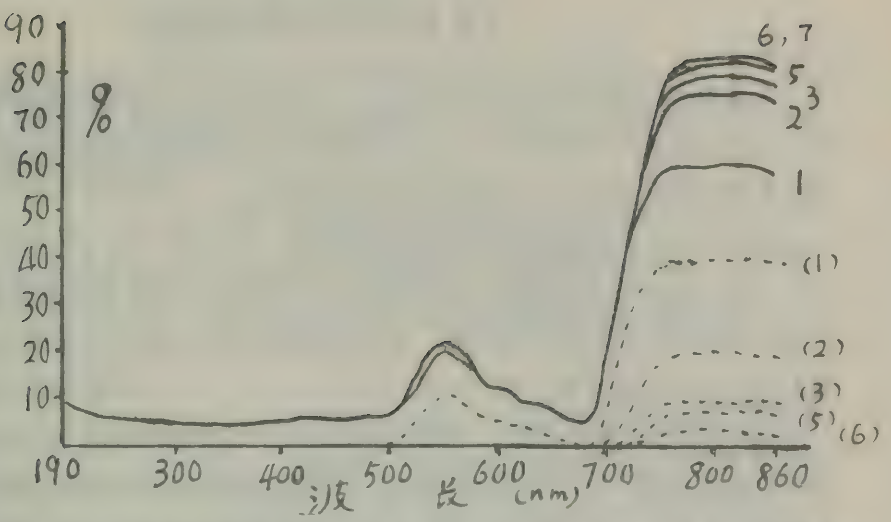
（三医大军医系八四队学员）

摘要：本实施研究表明：（一）光照射到植物绿叶时，光的反射不仅仅发生在叶子表面，还发生在表面以下各组织层（见图二）；（二）在190－860nm之间，绿叶的反射比和透射比曲线具有基本相似的变化趋势。即在190－500nm段两曲线均较平坦，500至600nm段均出波峰，峰值均在555nm处，从680－750nm段曲线都陡升，750－860nm段两曲线又较平坦；（三）在190－860nm之间，绿叶在190至500nm段出现一个吸收区，在680nm



波　　长

图一：万年青幼嫩绿叶的（R）反射比曲线；（T）透射比曲线；（A）吸收比曲线。



图二：万年青幼嫩绿叶的反透射比曲线。1、2、3、5、6、7分别表示一片和二、三、五、六、七片叶重迭后的反射比曲线（其中6、7重合；(1)、(2)、(3)、(5)、(6)则表示相应的透射比曲线；七片叶透不过。

处出现一个吸收峰，它们的吸收比均高达85%以上；（四）虽然710－750 nm的红光对叶面的反射比大于500－570 nm的绿光，但人眼看到叶片仍然是绿色，我们对这一现象进行了解释。

我们测定了万年青、剑麻、天竺葵、夹竹桃、美人蕉、梅花和菊花等新、老绿叶的反射比和透射比曲线，这些曲线对研究绿叶的光合作用，它们的生长、发育、向光性、色彩和光学性质等，将提供有用的参数。

不同波长的光对垂盆草组织培养过程中生长发育的影响

倪德祥　王维荣　王　蓓

（复旦大学生命科学院）

垂盆草是一种用途极广的中草药，为了更好地开发药用植物组织培养的新方法，人为地控制其有效的生产，我们利用不同波长的光对培养物进行处理，研究其对培养后的形态发生及其化合物的累积的影响。

切取垂盆草无菌苗茎段为材料，接种到ＭＳ＋０．２ｍｇ／ｌＮＡＡ＋２ｍｇ／ｌＢＡ固体培养基上，分别置于不同波长的光架上及黑暗中培养一个月，各种波长荧光灯为冷白，红，黄、绿和蓝色荧光灯，光强约３．２W/m^2，日照１０小时，温度２５±２℃。

垂盆草组培中芽的发生，包括从腋芽和愈伤组织两个途径来。不同波长的光对腋芽途径发生的芽的影响间无差异，但对愈伤组织途径的芽有影响，其中以黄光最有利于生芽，黑暗最差。白光下的试管苗生长正常且壮，节间短而粗，黑暗下为典型的黄化苗，蓝光下的苗同白光下的一致，其它波光长下的苗较长而细瘦。

白光下试管苗的生物重量最大，红光及黄光下的次之，黑暗下的最小。蓝光下苗的含水百分率最大，白光下的为最小。白光下试管苗的绿色素含量最大，利于叶绿素的形成，黄光下的次之，黑暗下的最低。试管苗的还原糖及总糖含量均以黑暗下的为最高，绿光下的为最差，白光下较黑暗下的为低，表明组织培养中培养物不利用光进行光合作用。

蓝光下试管苗的总核酸含量最高，黄光下为最低。红光下试管苗的ＤＮＡ含量最高，黄光下为最低。白光下的ＲＮＡ含量最高，黄光下的为最低。白光下的蛋白质含量为最高黄光下为最低。

总之，白光和蓝光对垂盆草组织培养的形态发生、生长状况及大分子化合物的积累最有利。

光质对花叶芋离体培养的生理生态效应

倪德祥 王 蓓 冯文煦

（复旦大学生物系）

光质对高等植物组织培养作用的研究，正越来越受到人们的重视。从已有的报道看，大多侧重于形态学方面的工作，而对光质作为一种生态因子在植物组织培养系统中生理生态效应的研究较少。

本实验以光质（白、红、黄、绿、蓝光和黑暗）对双色花叶芋（*Caladium bicolar*）的叶为外植体进行诱导培养，着重探讨了光质对叶绿素a、叶绿素b及类胡萝卜素、过氧化物酶、过氧化氢酶活力、碳水化合物含量、蛋白质、DNA及RNA含量的影响。

试验的结果表明，光质对DNA的含量影响不大，这反映了DNA在植物体内作为一种信息贮存、表达的物质基础，具有相对的保守性和稳定性，因而较少受生态因子变化的影响。然而光质对培养物的RNA、蛋白质和总核酸含量有影响，不同的光有不同的效应。结合形态学分析，器官发生只与特定RNA和特种蛋白质的合成有关，而与其总量并无直接的关系。

在不同波长光处理下，培养物内的碳水化合物含量有差异。红、黄光下，培养物总糖含量最低，绿光和黑暗处理下的总糖含量为最高。这表明培养物内的糖分产生与光合作用无关，而与培养基中糖被利用状况及培养物吸收转化的途径相关。

黑暗处理抑制了各种色素的合成，其含量最低。黄光和红光对叶绿素b有明显的促进作用，未发现红光对叶绿素总含量的形成有促进效果，这也许是因为在离体培养系统中缺少或不存在光敏色素的缘故，有待深入研究。

试验还反映了，不同波长光质对过氧化物酶及过氧化氢酶的活力有影响。绿光和黑暗处理下，过氧化物酶活力最高，黄光中活力最低；对过氧化氢酶来说，白光及黑暗中活力最高，红光中活力最低。在黑暗处理中，发现培养物产生明显的晶体化现象，这与Kevers（1984）的报道结果一致，导致这种现象产生的原因，可能是由于受过氧化物酶——IAA氧化酶系调控的乙烯释放而引起的。

在植物组织培养中，光质作为一种物理因子是值得重视的。本实验的结果清楚地反映了，不同波长的光质不仅可调控培养物的形态发生，而且这种形态发生变化是以光质的生理生态效应为先导的。

光质和激素组合对菊花（"绿牡丹"）茎段培养中生长发育的交互影响

倪德祥　王维荣　王　蓓

（复旦大学生命科学院）

激素及其组合对植物组培的调控作用已有大量的研究，但对光质作用的研究还很少。本文着重讨论光质及激素组合对绿牡丹茎段培养中的形态发生及大分子和色素分子积累的影响。

实验以"绿牡丹"试管苗茎切段为外植体，分别接种到三种不同激素组合的培养基上，即①MS+0.2NAA+2BA；②MS+0.2NAA+2KT；③MS+0.2NAA+2ZT（单位mg/l）。分别以日照10小时的冷白、红、黄、绿、蓝荧光灯光照及黑暗处理，温度25±2℃；培养一个月进行统计和测定。

培养后试管苗的生芽、生根与否及其数量以激素组合的效应为主。（3）号组合强烈抑制生芽，（1）、（2）号组合利于生芽；（3）号组合利于生根，而（1）、（2）号组合完全抑制生根。白光下的生芽最多，黑暗下最少；而黑暗下的生根最多，蓝光下的最少，其它光质在不同激素组合下产生的效应程度不同，但结果表明光质对形态发生及生长状况的影响只是量上的差别，对激素组合只是一种补偿作用。培养物的生物重量受光质的影响也较明显，所有激素组合下以白光下的生物重量为最大，而激素则以（1）号组合下的为最大。光质及激素组合对生物重量的影响也正体现在生芽、生根及愈伤组织的量上。这些结果充分表明"绿牡丹"组培中形态发生的有无决定于激素组合，而光质左右的只是培养物的质地、生长状况及发生的量，是激素作用的补偿。

白光下试管苗的叶绿素a，b及总量为最高，红光及黑暗抑制叶绿素的形成，激素组合以NAA+BA下的为最高。白光下的试管苗还原糖及总糖量明显低于其它光处理，绿光及黄光下反而高，说明组培中并不利用光进行光合作用。NAA+ZT组合下的为最高，NAA+KT下的次之，NAA+BA下的最低。

黄光对总核酸、RNA及蛋白质含量有促进作用，蓝光对总核酸、红光对蛋白质有促进作用，蛋白质与RNA量之间有一种平行关系。同一光质下（3）号组合下的总核酸、RNA及蛋白质含量均为最高，（2）号次之，（1）号最低。

综上所述，光质及激素组合对"绿牡丹"组培的试管苗的大分子及色素分子的

积累，形态发生的类型及数量起着一定的调控作用，但至今还不能确定是什么因子调控着光质所起的以上作用。机理的研究，有待深入。

光质和激素组合对石刁柏茎段培养中生长发育的共同作用

倪德祥　王　蓓　王维荣

石刁柏是一种名贵的药用及食用植物。本文讨论光质及激素组合对石刁柏茎段培养中芽、根的发生及芽长、生物重量、叶绿素、糖、核酸及蛋白质含量的共同影响。

试验用石刁柏无菌苗的茎切段为外植体，接种到三种不同激素组合的培养基上，分别是：（1）MS+0．2NAA+0．5BA；（2）MS+0．2NAA+0．5KT；（3）MS+0．2NAA+0．5ZT（单位mg／l）。培养材料分别置于冷白、红、黄、绿、蓝色荧光灯及黑暗的培养箱中培养一个月进行统计和测定。光照强度约3．2w／m²，日照10小时，温度25±2℃。

白光对石刁柏试管苗芽的发生、伸长生长最为有利，而黑暗较差。同一光质下，以NAA+ZT组合的生芽最多，芽伸长最大，（2）号组合较差；（1）号组合为最差。对生根来说，（1）及（2）号组合强烈抑制生根，（3）号组合明显促进大量生根。但（2）号组合下，红光及黄光下有少量根发生。（3）号组合下以红光及黄光最利于生根，蓝光的生根效应较差。除（2）号组合下有异常外，白光下试管苗的生物重量为最大，绿光下的为最小。NAA+ZT组合下的生物重量最大；（1）号次之；（2）号最差。生物重量所受的影响与形态发生状况相一致。

白光下试管苗的叶绿素a、b及总量最大，其它光质下均很小，有不同程度的差异。不同组合下由于受光质的影响，虽有一定的差异，但无规律可寻。还原糖含量以白光下的为最高。绿光下最低，其它光质间的差异较大。总糖量在不同组合下及不同光质下的差异很大，但由于两者的共同作用而没有一定的影响模式。

蓝光下石刁柏试管苗的总核酸含量最高，绿光下较差，其它光质间有一定的差异。同一光质下，以NAA+BA组合下的总核酸含量为最高，（2）号组合次之

（3）号组合最低。RNA受不同光质的影响虽有差异，但由于与激素组合的共同作用而无规律性，但蓝光下总是最低。同一光质下，总的趋势是（3）号组合下的为最高，（1）号组合次之，（2）号组合最低。蛋白质的含量由于光质与激素组合的共同作用，虽然有明显的差异，但影响情况复杂，无一定模式。

总之，光质和激素组合对石刁柏试管苗的形态发生类型及发生量、大分子化合物及色素的含量有一定的影响，两种因子共同作用调控着以上过程，分不清那种作用属主属次，什么因子调节或平衡着两者的作用有待于进一步的研究。

光质和激素对吊竹梅组织培养中形态发生的影响

倪德祥　王维荣　王　蓓

吊竹梅是一种常见的花卉植物。光质对植物组织培养调控的研究与激素相比，还是个全新的课题，要弄清光质在植物组织培养中究竟起了一种什么作用，还有待于广泛深入的研究。本文侧重于讨论光质和激素组合对吊竹梅组织培养中形态发生及生物重量的影响，为发展花卉业，实行人工调控花卉生长积累资料。

以吊竹梅无菌试管苗为材料，切取约一厘米长的茎段接种到三种不同激素组合的培养基上，分别为：（1）MS+0.2NAA+2BA；（2）MS+0.2NAA+2KT；（3）MS+0.2NAA+2ZT（单位mg／l）。分别进行日照10小时的冷白、红、黄、绿和蓝色荧光灯的光照及黑暗处理，温度25±2℃，培养一个月统计芽数，根数并称重。

同一组合激素下，蓝光下的吊竹梅试管苗的芽数最多，其它光质则因不同的激素组合而表现出不同程度的效应，（1）号组合下，黑暗及红光下的生芽率最低，（2）号组合下黑暗及绿光下的芽数最低，（3）号组合下同（2）号组合一致。因此总的说来蓝光利于生芽，黑暗则抑制生芽。不同激素组合间对发芽的效应差异不明显，其中以NAA+ZT组合为稍高。

但在生根方面，决定发根与否的是激素组合，（1）号组合完全抑制生根，

（2）与（3）号组合则促进生根，其中以（3）号组合的效果更好。光质则控制着根数量上的差异，（2）号组合下，白光利于生根，红光、黑暗及绿光较差；（3）号组合下，白光、红光及黄光利于根的大量形成，黑暗较为抑制根的形成。可见光质所起的作用与激素不同，前者引起的是量上的差别，后者引起的是质的不同。

光质对吊竹梅试管苗生物重量也有明显影响，蓝光下的最高，黑暗下的最低，其它光质间也有一定差异。同一光质下，总的说来以NAA＋ZT组合下的为最高，NAA＋KT组合次之，NAA＋BA组合下的为最低。

另外，白光下的试管苗生长正常，绿而壮，而黑暗下则为典型的黄化苗。红光下则表现出部分黄化现象。蓝光下的生长状况也较好。

因此，白光及蓝光对吊竹梅试管苗的形态发生及生长有利。

白脉网纹草茎段培养中的红光效应

蒋如敏　倪德祥

（复旦大学生物系）

白脉网纹草（*Fittonia argyroneura*）为爵床科多年生草本植物，植株矮小，叶脉呈白色，给人以清晰、雅致感，是制作袖珍盆景和布置室内外环境的重要观叶植物。但是，目前自然繁殖资源缺少，急需快速繁殖。为此，白脉网纹草的快速微繁殖已有报道，但未见过光因子调控效应的研究文献。我们采用常规的植物组织培养方法，结合光质在组培过程中的调控效应，开展了本项研究。

实验时，切取白脉网纹草的无菌苗带节茎段为外植体，接种于预先配制好的MS固体培养基（附加NAA0.2mg/l，BA2mg/l）上，每瓶接种4段，每种处理至少重复5次。培养条件为25±2℃，每天光照10小时，分别置于红光、白天和黑暗中。其中，红光和白光的荧光灯管的形状和耗电功率一样，红光的波长范围为600～690nm，峰值为652nm。红光和白光的辐照度相同，约为3.2w/m^2。经50天培养后，对于3种不同处理的结果，进行测定和统计分析。

实验结果表明，白光下的侧芽多而呈丛生，叶片大而色泽深，红下则侧芽少，叶片小；黑暗处理下的苗，明显黄化，茎节短缩。从3种处理所测得的生物重量、侧芽总数和叶片数的统计分析看，都反映了一致的趋势，即红光的诱导效应优于黑暗处理，但不如白光下的作用。自1920年确立了光周期反应的概念以来，以此为基础，很快搞清了红光——远红光（R—FR）可逆系统与植物光形态建成之间有着普遍的多样性的联系。本实验证明红光（波长峰值652 nm，辐照度为3.2 w/m^2）对于白脉网纹草茎段的离体诱导培养有抑制作用。但是，随植物种类的“临界光强”的相异，红光效应会出现正、负绝然不同的结果。

除红光以外的其他波长的彩色光，我们将进一步研究，以便探明适用于白脉网纹草离体诱导培养成苗的单色光源，为实现白脉网纹草微繁殖的高效益生产，提供新的参考资料。

不同激素浓度及光质对烟草叶片不定芽形态发生的效应(摘要)

张丕方　董崇楣　倪德祥　王　琦

（复旦大学　上海）

已有一些报道说明光与内源激素合成间的关系，例如，Reid、（1968）已证实红光引起大麦黄化叶内生赤霉素的急剧地增加，并由此促使NAA和蛋白质的合成。可见，应用激素的不同浓度结合不同光质对试管苗形态发生的调控试验，无论对生产应用或理论研究，均有重要的意义。为此，本文对此问题作一些初步探讨。

研究材料为烟草（*Nicotiana tabacum*），激素浓度配比分别为（BA/NAA）：%，0.50/0.05，1.00/0.10，2.00/0.20（单位：mg/l）。MS基本培养基。光质，选择复旦大学电光源研究所特制的荧光灯为光源。应用自动光谱辐射光度计，激光功率计及照度计，测出光源有关的技术参数，根据辐射通量与光通量的函数关系：

$$\varnothing V = K_m \int_{380}^{780} \varnothing e(\lambda) V(\lambda) d\lambda$$（其中 $\varnothing V$ 为光通量，$\varnothing e$ 为辐射通量，$V(\lambda)$ 为视觉函数，K_m 为光功当量），通过调节光源与被照物之间的距离，得到了辐照度为1.40±0.01毫瓦/平方厘米的蓝光（B 435 nm）、红光（R 660 nm）和白光（w）用于试验。在不同光质（B、R、W）和黑暗（D）中培养16天，取出测定。

结果，得出在低和中等浓度激素下（BA0.5/NAA0.05，BA1.0/NAA0.1），光质的效应能表现出来，而在高浓度激素BA2.0/NAA0.2）时，光质的效应被激素的作用所掩盖。同时，发现激素对烟草叶片的不定芽发生起着质上的决定作用，而光质更多地起着量上的影响。

光质对不同生活型植物的器官发生和生长的影响(摘要)

张丕方　董崇楣　倪德祥　王　琦

（复旦大学　上海）

自从de Capite，（1955）在向日葵等组织培养中引进光因子的实验以来，国外一些学者相继开展了这方面的工作。由于所用的材料不同，出现了不一致的结果，也由于光条件的控制不一，出现了相悖的结论。到七十年代中期，Seibert在光强和波长相互作用方面做了一些有意义的工作，並对以前工作中所出现的矛盾结果，从光条件方面作了一定解释。但对为什么不同材料出现不同的结果，缺少进一步的研究和讨论。本文从不同生活型植物为材料作试验，试图从植物生态环境、基因型来解释不同植物对光质反应的不同敏感性。这对于植物组织培养中光因子作用的进一步研究，具有实践上和理论上的意义。

材料，选择不同生活型的植物：兰州百合（*Lilium davidii* Var. *unicolor*）、头兰（*Cymbidium grandifloram*）地下芽植物，非洲紫罗兰（*Saintpaulia ionantha*）莲座状地面芽植物，

斑川海棠（Begonia rex—Cultorum）地上芽植物，烟草（ricotiana tabcum）较高位地上芽植物，培养于MS基本培养基，附加蔗糖30克／升，琼脂6克／升，PH5．6～5．8。待试验的无菌材料均先培养于无激素的基本培养基上，光质处理诱导出芽的培养基分别为：百合、海棠、非洲紫罗兰培养于MS＋NAA0．2＋BA2（毫克／升）培养基上，烟草培养于MS＋NAA0．05＋BA0．5（毫克／升）的培养基上，兰花培养于MS＋BA2（毫克／升）培养基上（以上培养基均为筛选出的最佳培养基）。光源选择相同于"不同激素浓度及光质对烟草叶片不定芽形态发生的效应"一文。

结果，作为地下芽的百合和 头兰的小鳞茎、原球茎的发生不依赖于光照条件而作为地面芽和地上芽的非洲紫罗兰和海棠的不定芽发生，在1．40mW／cm^2的光强下，红光有促进作用，而光亮和黑暗，则有抑制作用；较高位芽植物的烟草则是兰光对其不定芽的发生有利，而红光和黑暗有抑制作用。

不同光质及其强度对烟草叶片不定芽发生和生长的效应（摘要）

董崇楣　张丕方

（复旦大学　上海）

植物光形态发生方面的工作，国内外已有一些报道。特别是Seibert（1975）的工作，对以前光质试验中所出现的矛盾结果，从光条件方面作了解释。并提出烟草不定芽的发生，在不同光质条件下，所要求的光强是不同的。因此本文开展了这方面的进一步探讨，并对发生与生长二个不同概念作了讨论。

方法，以烟草（Nicotiana tabacum）无菌苗，取7×8mm^2的叶子，切去叶柄，作为外植体。以MS附加蔗糖30克／升，琼脂6克／升，6苄基氨基嘌呤（BA）0．5毫克／升，萘乙酸（NAA）0．05毫克／升，PH5．6～5．8。

光源用复旦大学电光源研究所和材料研究所特制的荧光灯，应用自动光谱辐射光度计，激光功率计及照度计，测出光源的有关技术参数，根据辐通量与光通量的

函数关系：$\varnothing = Km \int_{380}^{780} \varnothing e(\lambda) V(\lambda) d\lambda$，其中$\varnothing V$为光通量，$\varnothing e$为辐射通量，$V(\lambda)$为视觉函数，$Km$为光功当量。通过调节光源离被照物的距离，得到了B灯（435 nm）蓝、R灯（660 nm）红和辐照度调节范围更广的P灯（430 nm）蓝和Q灯（610 nm）红以及W灯（白光），光强为0－4.2 mw/cm^2，黑暗以D表示。培养室温28±1℃，每天光照9小时，培养16天后进行测定统计。

结果，在红光、蓝光、白光在不同的光强（0－4.2 mv/cm^2）条件下，对烟草叶片不定芽的发生及生长的效应是蓝光在低强度（0.4 mv/cm^2左右）时，对芽发生的诱导作用最强，随着光强的升高或降低，芽的发生频率都有所下降。而红光在辐照度0－4.2 mw/cm^2的范围内，随着强度的升高，对芽的诱导作用也增高。白光也是随着强度升高而诱导作用有所增高。就芽的生长来说，随着光强的升高，都对生长有抑制作用。无光照的条件下，芽发生及生长都没有在光条件下的高。

大豆光周期研究进展(摘要)

徐 豹 路琴华 庄炳昌

（吉林省农科院大豆研究所）

1980－1987，在公主岭（43°31′N，124°48′E，203M）研究了：世界不同地区野生大豆（*G. sola Sieb. et Zucc.*）的光周期效应以及不同进化类型大豆光周期效应的比较。

一、世界野生大豆只分布在东亚（24－53°N，97－143°E，0－2650M），近十年中国搜集约5000份（24－53°N，97－134°E，0－2650M）。研究结果：

1、临界光周期：不同纬度材料在4－18小时光周期下的FD值（出苗－初花天数）：（1）8－10小时下FD值最小，不同纬度间FD差值最小。

（2）13．5小时下各地材料均能开花且纬度间差别大，是研究光周期的重要处理。（3）14小时日照，27°N以南材料（平地）不开花，18小时日照，45°N以南材料不开花。（4）同纬度高海拔材料比低海拔的临界日长短。

2、不同地理位置材料在同一光照周期下的发育期：（1）13．5小时光照下，野生大豆原产地纬度（25—52°N，平地）与FD呈指数曲线关系 $Y=6128\times 0.8468^{x}+23$（Y=FD，x=°N）。35°N以南，FD值成倍增长。（2）同纬度材料FD值，高海拔＜低海拔，内陆＜沿海，与平均温度与昼夜温差有关。35°N的材料，高温可促进开花（8小时日照），也可抑制开花（13．5小时日照）。（3）一定光周期下，高纬度材料出现"畸形荚"，低纬度材料，出现"迟结荚"。（4）根据343份（中国、日本、南朝鲜、苏联）的光周期分析，将世界野生大豆划分为7个生态区，13个亚区。

3、光照阶段与光周期效应：（1）出苗处以短日照（8小时），分期移至日照（18小时），以开始开花的临界处理作为光照阶段长度。原产26°N的野生大豆光照阶段为9—12天，植株形态为子叶到0．8复叶期。（2）光周期效应不仅制约开花，且制约结荚与成熟。

二、栽培大豆（G. *max*）（C），半野生大豆（G. *gracilis*）（SW）与野生大豆（W）的比较：1、各地野生大豆与当地的栽培大豆地方品种开花晚，短日性较强。2、在同一光周期下最高和最低纬度材料FD值最大差值的大小作为光周期反应敏感度的标志，则W＞SW＞C 3、在12小时光周期下，W与C的FD值差别最小，往北W＜C，往南W＞C。4、原产地相同的C的光照阶段短于W。

三、讨论了：1、光温生态型与各地大豆生育期的关系。2、野生与栽培大豆的比较研究与大豆起源地问题。3、光周期的变异趋向与大豆进化问题。

• 国家自然科学基金资助项目。

多变鱼腥藻(Anabaena Varlabllls)藻胆体—类囊体膜的研究

路荣昭 王淑芝 刘 斌 于延利

（中国科学院植物研究所）

管汀鹭

（中国科学院发育生物研究所）

摘 要

在0．5M蔗糖，0．5M磷酸钾和0．3M柠檬酸钠（PH7．0）的介质中，通过超声波破碎处理和离心装备藻胆体—类囊体膜。

吸收光谱：它的吸收峰位于678 nm，624mn490mn，438nm和418nm，478nm是类囊膜上叶绿素a的吸收峰，624 nm是藻胆体的吸收峰，490nm是类胡萝卜素的吸收峰，438nm和418nm是叶绿素a的蓝区吸收峰。

室温荧光发射光谱：当用580 nm波长光激发藻胆体—类囊体膜中藻胆蛋白时，它的荧光峰位于662 nm。在680 nm处有一荧光发射肩。662 nm荧光峰是藻胆体荧光峰，680 nm峰属于类囊体膜荧光。这说明当藻胆体—类获体膜中藻胆蛋白捕 580 nm波长光时，能将光能有效地传递给类囊体膜上叶绿素a，发射出680 nm荧光。当用436 nm波长光激发藻胆体—类囊体膜上叶绿素a时，荧光发射峰位于683 nm。而在662 nm处没有荧光发射峰或肩。说明叶绿素a捕获的光能不能传递给藻胆蛋白。

液氮温度荧光发射光谱：用580 nm波长光激发时，荧光峰位于655 nm，666 nm，695 nm和730 nm。655nm峰是C—藻蓝蛋白荧光，666 nm峰是别藻蓝蛋白荧光，695 nm峰是类囊体膜光系统Ⅱ的荧光，730 nm峰是光系统Ⅰ荧光。由此可以看出藻胆体能将捕获的光能传递给类囊体膜上的光系统Ⅱ和光系统Ⅰ。当用436 nm波长光激发时，只有两个荧光峰，它们分别位于695 nm和730 nm。没有藻胆蛋白的荧光。

光化学活性：藻胆体—类囊体膜放氧速率为245u mole O_2／mg Chl，h。

电子显微镜观察：电镜照片显示类囊体膜上有大量的藻胆体。

藻胆体一类囊体膜的拆开：用０．３Ｍ蔗糖，０．０５Ｍ磷酸缓冲溶液（ＰＨ７．０）洗藻胆体一类囊体膜。洗后的藻胆体一类囊体膜吸收光谱中６２４ *nm* 吸收峰显著下降，说明大量藻胆体已脱离类囊体膜。

华北半叶紫菜(Porphyra Katadai Vai hemiphy lla)藻胆体的研究

路荣昭　于延利　王淑芝

（中国科学院植物研究所）

摘　要

藻胆体的分离：华北半叶紫菜采自青岛海滨。冷冻后，用０．９Ｍ磷酸缓冲溶液洗二次。经过用石英砂研磨，超声波破碎和Ｔｒｉｔｏｎ x—１００处理后，通过不连续蔗糖密度梯度离心分离藻胆体。

吸收光谱：华北半叶紫菜藻胆体吸收主峰位于５６８ *nm*，其它三个吸收峰在５００ *nm*，６２０ *nm* 和６５０ *nm*，另一吸收肩在５５０ *nm*。５００ *nm* 和５６８ *nm* 吸收峰及５５０ *nm* 吸收肩属于Ｒ—藻红蛋白。６２０ *nm* 吸收峰属于Ｒ—藻蓝蛋白。６５０ *nm* 吸收峰属于别藻蓝蛋白。

室温荧光光谱：在藻胆体的室温荧光光谱中有二个荧光峰，位于５７８ *nm* 和６７２ *nm*，它们分别属于Ｒ—藻红蛋白和别藻蓝蛋白—Ｂ。完整藻胆体Ｆ６７２与Ｆ５７８的比值为２．９。解离的藻胆体此比值显著下降，Ｆ５６８的相对荧光强度将超过Ｆ６７２相对荧光。

液氮温度荧光光谱：藻胆体的液氮温度荧光光谱的荧光峰在５８０ *nm* 和６８４ *nm*，荧光发射肩在６３２ *nm*；它们依次属于Ｒ—藻红蛋白，别藻蓝蛋白—Ｂ和Ｒ—藻蓝蛋白。完整藻胆体Ｆ６８４与Ｆ５８０相对荧光强度的比值为５．３。解离藻胆体此比值仅为１．２。

在蓝藻完整藻胆体的室温和液氮温度荧光发射光谱中只有别藻蓝蛋白—Ｂ

荧光发射峰，这说明光能传递效率很高，其它藻胆蛋白所捕获的光能能全部传递到别藻蓝蛋白—B。红藻华北半叶紫菜的藻胆体荧光发射光谱则不同，给别藻蓝蛋白—B荧光峰外，尚有R—藻红蛋白荧光发射峰，这说明华北半叶紫菜藻胆体含有大量的R—藻红蛋白，它们只能将所捕获的光能之一部份传递给别藻蓝蛋白—B，另一部份光能以R—藻红蛋白荧光发射出来。

可以根据室温荧光F672与F578和液氮温度荧光的F684与F680相对荧光强度的比值来判断华北半叶紫菜藻胆体的完整性与解离程度。

湖北光敏核不育水稻育性转换的初步研究

万邦惠

（华南农业大学）

摘　要

试验从1985～1987年在南宁和广州进行。采用自然日照条件对湖北光敏核不育水稻农垦58A的育性作了周年观察，并结合不同光长度处理探讨了育性转换所要求的条件。试验结果表明：农垦58A在华南（22°35′～23°08′N）的自然条件下，存在两个明显的育性转换期，即6月上旬从可育转换为不育，临界光长度约13时50分，8月下旬从不育转换为可育，临界光长度约13时32分。临界光长度的差异证明光敏核不育水稻的育性转换对光长度要求存在可变性，这个可变性是由气候条件的不同造成的，与温度和光强度有关，具有温度愈高要求临界光长度愈短的趋势。

导致光敏核不育水稻育性转换的因素除光长度外还有诱导天数，是两者共同作用的结果。试验表明：只有当光照长度短于13小时同时诱导天数达到21天以上，才能使育性基本正常，而当光照长度长于不育的临界光长度及诱导天数长达27天以上，才能达到完全不育，在上述不育和正常可育所要求的条件之间，光敏核不育水稻农垦58A的育性表现呈量变状态。同时，若光长

度不诱导天数两者只备其一，育性也只是部分可育的。

按照丁颖对稻穗发育期分的八个时期与光敏核不育水稻育性转换的敏感性试验结果看出，稻穗发育的不同时期对育性转换的敏感度存在差异。以幼穗发育的第二次枝梗及颖花原基分化（Ⅲ）期至花粉母细胞形成（Ⅴ）期最强，以此为中心向两边移动，其敏感度逐渐减弱。但这只是一个量的差异而无质的变化。同时，这个敏感度的差异只在部分可育的条件才能显现出来。

在含有叶绿素、电子受体和电子给体的人工生物膜上的光致电子转移

（摘　要）

方一非

（科学院　化学所　北京）

G. Tollin(Dept. Bioehem. Uuiv. Avizona. U.S.A.)

光合细菌的反应中心含有细菌叶绿素、醌、细胞色素等电子传导体。光引起的电子转移被认为是激发态的细菌叶绿素二聚体把电子传给做为初级电子受体的细菌叶绿素和脱镁叶绿素单体，这个过程在约7微微秒内完成，然后，电子被传给做为次级受体的质醌。电荷分离生成的细菌叶绿素二聚体正离子自由基则被做为次级电子给体的结合态的细胞色素所还原，实现了电荷的进一步的分离[1]。

本工作在研究以苯醌为电子受体的含叶绿素的脂质体上的电子转移[2][3]的基础上，用激光闪光光解的方法，通过测定闪光后不同时间的明暗差光谱和分析体系的特征光吸收随时间的变化，基本弄清了在含有叶绿素、苯醌和细胞色素C的荷带有负电荷、正电荷以及电中性的脂质体上的光致电子转移过程，测定了各步反应的速度常数，主要结果如下：

1、在荷带负电荷的脂质体上的电子转移：

在这个体系中，带有正电荷的细胞色素C结合在荷带负电荷的脂质体的表面。

闪光后，激发态的叶绿素除了把电子传给苯醌外，少部份电子传给了结合在膜表面的细胞色素C。叶绿素变成为正离子自由基（$Chl^{\dot{+}}$），苯醌变成负离子自由基（$Q^{\dot{-}}$），细胞色素从氧化态（$Cy^{\dot{+}}C_{(ox)}$）变为还原态（$Cy^{\dot{+}}C_{(red)}$），脂质体的负电荷把$Q^{\dot{-}}$从膜上排斥到水箱中，而$Cy^{\dot{+}}C_{(red)}$由于仍带正电，所以还结合在膜表面。

进一步的过程是$Chl^{\dot{+}}$被结合于膜上的$Cy^{+}C_{(red)}$所还原，已被排斥入水箱的$Q^{\dot{-}}$也以慢一个数量级的反应速度在膜与水箱的界面还原$Chl^{\dot{+}}$，水箱中的未与$Chl^{\dot{+}}$反应的那一部份$Q^{\dot{-}}$把结合于膜上的$CyC_{(ox)}$还原。

2、在荷带正电荷的脂质体上的电子转移：

和荷带负电的脂质体上的情况相反，细胞色素C不但不结合于膜上，还被排斥而难于靠近脂质体，从激发态叶绿素被猝灭的情况可看出完全没有叶绿素与$Cy^{\dot{+}}C$之间的电子转移。只有苯醌做为受体接受从叶绿素传来的电子。生成$Q^{\dot{-}}$和$Chl^{\dot{+}}$、$Chl^{\dot{+}}$留在尽管是带着正电荷的膜上。$Q^{\dot{-}}$大部份被膜的正电荷吸引在膜上（只有小部份进入水箱）。在膜上，$Q^{\dot{-}}$与$Chl^{\dot{+}}$复合。进入水箱的那一部份$Q^{\dot{-}}$中有一部份以只有以上反应的速度的$\frac{1}{30}$的速度在膜与水箱的界面上与Chl^{+}复合，另一部份水箱中的$Q^{\dot{-}}$在水箱中把$Cy^{\dot{+}}C_{(ox)}$还原。

3、在电中性的脂质体上的电子转移：

当脂质体不带电荷时，$Cy^{\dot{+}}C$不结合于膜表面，也不像在正电脂质体的情况下的被排斥。在这个体系中，几乎只有苯醌接受激发态叶绿素传来的电子，但也还可以测到很少量的从激发态叶绿素到$CyC_{(ox)}$的电子转移。接着的反应是$Chl^{\dot{+}}$分别被膜上的$Q^{\dot{-}}$和水箱中的$Q^{\dot{-}}$以不同的速度还源，另有少部份$Chl^{\dot{+}}$在膜与水箱的界面上被水箱中的$Cy^{\dot{+}}C_{(red)}$所还原。在水箱中，还可测到$Q^{\dot{-}}$对$Cy^{\dot{+}}C_{(ox)}$的还原。

上述三种体系上的电子转移反应列于下表：

脂质体	电子转移反应		
	膜上的反应	界面上的反应	水箱中的反应
荷带负电	$Chl^{\bullet}+Q \longrightarrow Chl^{+}_{\cdot}+Q^{-}$	$Chl^{+}_{\cdot}+Q^{-} \longrightarrow Chl+Q$	
	$Chl^{\bullet}+Cy+C_{(ox)} \longrightarrow Chl^{+}_{\cdot}+Cy+C_{(red)}$	$Cy+C_{(ox)}+Q^{-}_{\cdot} \longrightarrow Cy+C_{(red)}+Q$	
	$Chl^{+}_{\cdot}+Cy+C_{(red)} \longrightarrow Chl+Cy+C_{(ox)}$		
荷带正电	$Chl^{\bullet}+Q \longrightarrow Chl^{+}+Q^{-}_{\cdot}$	$Chl^{+}+Q^{-}_{\cdot} \longrightarrow Chl+Q$	$Cy+C_{(ox)}+Q^{-}_{\cdot} \longrightarrow Cy+C_{(red)}+Q$
	$Chl^{+}_{\cdot}+Q^{-}_{\cdot} \longrightarrow Chl+Q$		
电中性	$Chl^{\bullet}+Q \longrightarrow Chl^{+}_{\cdot}+Q^{-}_{\cdot}$	$Chl^{\bullet}+Cy+C_{(ox)} \longrightarrow Chl^{+}_{\cdot}+Cy+C_{(red)}$	$Cy+C_{(ox)}+Q^{-}_{\cdot} \longrightarrow Cy+C_{(red)}+Q$
	$Chl^{+}_{\cdot}+Q^{-}_{\cdot} \longrightarrow Chl+Q$	$Chl^{+}_{\cdot}+Q^{-}_{\cdot} \longrightarrow Chl+Q$	
		$Chl^{+}_{\cdot}+Cy+C_{(red)} \longrightarrow Chl+Cy+C_{(ox)}$	

参考文献:

〔1〕 J. Barber TIBS 12(8), 321—326 (1987)
〔2〕 Y. Fang and G. Tollin, Photochem. Photobiol. 36, 429—439(1983)
〔3〕 Y. Fang and G. Tollin Photochem. Photobiol. 39, 685—691 (1984)

谈谈光的〈按摩〉作用

内容提要

１９８５年６月底，保定下了一场大雹，次年雹区石榴花果稀少、８６年调查，自中秋至春分，不受日光直照的植株无花果；受光充分的有少量花果、表明在休眠期日光照射影响产量。我们从秋季开始，又对两盆同龄石榴做日光和隔光（纸罩）对比实验、在温，湿度；土壤肥力及不鋻枝等相同条件下休眠，记录开春发芽的数据如下表。（表中发芽情况是指从第一芽出现到９５％芽形成所经历

名称	时间	花数	果数	发芽情况	长势	枯枝率	备注
光照树	８７年	１５朵	７个	６天	５cm	２．０％	
隔光树	８７年	１２朵	５个	８天	７cm	４．０％	
光照树	８８年	９朵		５天	５cm	２．５％	
隔光树	８８年	７朵		６天	５．５cm	５．０％	

的天数；长势是指发芽后一个月内新枝条的最长与最短长度之差；枯枝率是指枯枝总长度相对于树枝总长度之比的百分率。）不言而喻：花果数愈多；发芽天数愈少，都表明贮能愈充实；长势愈好，即差额愈短，表明发育愈整齐；枯枝率愈小，表明活力愈强壮。据此可知，日光照射对石榴生长的作用和在休眠期间的影响。悟出光对石榴生长，不仅有光合作用；光周期控制作用；还有调整，充实的功能、我们称此协调植株的长势作用为：光对生物的＜按摩＞作用。

为探讨光照协调作用的机制，可解释如次：

因生物体都是由细胞（膜，质，核）所组成，而细胞膜又是由蛋白质和脂类分子构成。它既是压电体，又是半导体，还可能有铁氧体的性质。它的作用是保护，物质流通和信息传递，它的状态是决定细胞生理活动的重要因素。

植物生长密切攸关的日光，有周期变化性及波粒二象性。植物的选择吸收，光化反应，电离等都来自光的粒子性。而另一表现为极高频率电磁波性，可进入生物体一定深度，对细胞产生影响。如改变膜的生物电，磁场，分子结构，和内液的ＰＨ值，使膜产生逆压电效应，和磁致伸缩效应。若把细胞看成

特殊膜的溶液袋，则由光的电磁波性引起细胞的机械压缩和舒张，这种强度不大，但周期得到严格控制的＜按摩＞作用。从调节膜的通透性和细胞内液的离子浓度两个方面改善细胞的生理活动，使植物细胞在休眠期也能获得一定程度的营养补充，协调植株各部的长势而减少死亡机率。

由光的＜按摩＞作用而引起的协调效果，贯穿于一年四季，在植物生长季节里，＜按摩＞作用与光合作用，光周期作用比较，处于次要地位，而在休眠期则因后二者作用消失，光的＜按摩＞作用才由次要上升而明显表露出来。

河北农业大学基础课部：
褚桂林，于伯练。
1988，6，5。

镉离子对菠菜叶绿体光系统Ⅱ的影响

杨丹慧　王可玢　赵福洪　许春辉　戴云玲

环境污染因子重金离子镉（Cd^{2+}）对菠菜叶绿体光合作用具有明显抑制作用，其中对光系统Ⅱ的抑制作用更为显著。5 mM Cd^{2+}可使光系统Ⅱ放氧活性抑制53%。Cd^{2+}使叶绿体的DCIP光还原活性降低；可变荧光受到抑制。加入光系统Ⅱ人工电子供体DPC和NH_2OH并不能使被抑制的活性恢复。我们认为Cd^{2+}除作用于光系统Ⅱ氧化侧外，还可能直接作用于光系统Ⅱ反应中心。

不同波度的Cd^{2+}处理后，叶绿体全电子链的电子传递活性比放氧活性的降低速率快。这暗示着光系统Ⅱ氧化侧不是Cd^{2+}唯一的作用部位，在光系统Ⅱ与光系统Ⅰ间的电子传递链上还存在一个对Cd^{2+}敏感的部位。

低温（－196℃）荧光发射光谱表明，Cd^{2+}使叶绿体的F686／F736及F696／F736比值降低。Cd^{2+}还使叶绿体的低温（－196℃）荧光激发光谱的F480／F436比值下降，使叶绿体表观吸

收光谱变平。

温和的SDS—PAGE分析表明，Cd^{2+}处理后，叶绿体类囊体膜中色素蛋白质复合物LHC—Ⅱ的部分寡聚体解聚成单聚体，叶绿体中LHC—Ⅱ总量减少。进一步用梯度胶分析叶绿体囊体膜的多肽组成，发现Cd^{++}使属于LHC－Ⅱ的多 减少。表明Cd^{2+}引起了LHC－Ⅲ的重新分配或它本身的解离。通过比较Cd^{2+}与Mg^{2+}对光系统Ⅱ活性的不同影响，我们认为Cd^{2+}使激发能不利于向光系统Ⅱ分配，从而破坏了两个光系统的协调合作。这或许是导致PSⅡ电子传递活性显著降低的因素之一。

我们的结果表明，Cd^{2+}对光合作用的抑制是多方面的，抑制部位是多点的。

植物组织培养中形态发生的作用光谱

潘战生　陈暨跃　蔡怀新
（复旦大学物理系）
张丕方（复旦大学生物系）
宋庆梅（复旦大学材料所）

我们用复旦大学材料所特制的荧光灯，研究了不同波长的光及其强度在烟草叶组织 培养中对烟草叶片上不定芽的诱导和愈伤组织生长的影响。荧光灯有6种，编号分 别为UV、BL、GR、YL、R1、R2。平均波长为：350nm、453nm、530nm、584nm、610nm、653nm。半宽在50nm以内。实验材料受到的辐照度（单位为mw/cm^2）由经过改装的热电偶功率计测量。各种光下不同光强处理均有6组，每组至少用12片外植体作为统计。光照时间每天12小时，培养基除UV灯为MS＋2mg／l 6BA＋0。2mg／l NAA外，均为MS＋0。5mg／l 6BA＋0。05mgmg／l NAA。培养时间均为三周。

实验结果表明，在低辐照度下，不定芽数及愈伤组织鲜重随着光强的增大而增加，当辐照度超过某一值时，生物量（芽数及愈伤组织鲜重）却随着光强的增大而减少。UV、BL、GR、YL、R2各灯的最大生物量分别在0。42mw/cm^2、

0.85mw/cm²、1.30mw/cm²、0.75mw/cm²、0.18mw/cm²时达到。平均波长为610nm的红光在辐照度达2.40nm/cm²时生物量仍没有出现饱和的趋势。

由各灯不同光强下的不定芽数及愈伤组织鲜重分别对光强作图，得到各灯的不定芽数及愈伤组织的生长曲线。以蓝光（平均波长λ=453nm）下的生物量最大值与黑暗下的生物量之差作为标准，各灯要达到这个反应量的50%所需要的入射光强的倒数对波长作图，得到不定芽诱导及愈伤组织生长的作用光谱，由作用光谱可见，光反应是蓝光效应。即平均波长为453nm的蓝光效果最好。

我们还用光声光谱仪扫出了在蓝光、普通荧光灯及黑暗中培养的烟草愈伤组织的光声光谱，除去叶绿素的吸收外，样品在蓝光区域仍有比其它可见光区域大的吸收，这与作用光谱的结果是基本一致的。

满江红鱼腥藻(Anabaena azollae)和满江红(Azolla imbricata Roxb Nakai)共生腔内毛细胞的单细胞吸收光谱及荧光光谱的研究

宋 云 刘春香* 左宝玉** 匡建云** 段续川**

（中华人民共和国公安部第二研究所 北京）

常规测定光谱的方法（包括测叶绿体、藻类、微生物以及其它一些细胞器等）是将要测成份通过各种方法提取出来，制成悬液，在分光光度计上进行测定。这一方法只能测定悬液中所含成份的总体情况，而同一种成份也可能是很复杂的，其中每个细胞也有新、老的差异以及个体之间不同，这样就无法分析了。我们用滚压分离满江红鱼腥藻及满江红毛细胞，然后在UNIVA显微分光光度计上进行测定。测定时我们选择了不同大小的光阑。

从吸收光谱看，各种色素的吸收峰与常规的测定方法所测得的位置基本一致：

Chl.a在435和676nm左右，类胡萝卜素490nm左右，藻红素在570nm左右，藻兰素在620nm左右。然而在营养胞与异型胞之间却存在着明显的差别，在营养胞中所含藻胆素的比例要比异型胞中的高，而在异型胞中主要含有叶绿素a，而辅助色素，藻胆素却很少。用较小的光阑测定表明，在营养胞和异型胞中相对吸收是不均一的，不同部位是不同的，特是在比较老的异型胞中，色素主要集中在某一部位，多数为集中在细胞的中央，而其它部位光吸收很低，甚至没有吸收。此外在不同部位的吸收波长也稍有位移。分析这是由于在不同部位色素的组成成份会有一定差异。

满江红其生腔内的毛细胞一般为二个细胞组成，内有丰富的线粒体，被认为是在代谢中起传递作用。这两种细胞也表现为不同的光吸收。毛细胞头部细胞分别在430nm、470nm和490nm处有吸收峰，

. 它们分别是Chl a、Chl. b和类胡萝卜素的吸收峰；而在毛细胞的基部细胞中，430nm、470nm和490nm处只有小的吸收峰，说明在基部细胞中Chl a. Chl b和类胡萝卜素的含量很小，几乎没有什么吸收。这可能是在长期的进化过程中，毛细胞已经特化成为萍藻之间代谢物的传递细胞，主要行使传递作用。而基部细胞比头部细胞特化的更强，其中的光合作用已经很少进行。而头部细胞还含有一定的光合色素，还可进行光合作用，但比起萍的叶肉细胞和藻细胞还是要微弱得多。总的看来毛细胞中不含藻胆素，属于萍体细胞。

从萍的营养胞和异型胞以及毛细胞的头细胞和基细胞的10秒荧光猝灭曲线看，它们在10秒钟内的曲线都很平稳，基本上没什么猝灭。所以我们选择了10秒测定时间，测定点为20个。结果积分值分别为：基部毛细胞，4025；头部毛细胞，4952；异型胞，9819；营养胞，12388。从这些数据可以看出，色素含量最高的是营养胞，其次是异型胞；而毛细胞所含色素要低一倍，特别是基部毛细胞色素含量最低。这更进一步证明营养胞主要是经营光合作用的场所，而异型胞次之，头部毛细胞也可进行一定的光合作用，而基部毛细胞还要低于头部毛细胞。

从室温荧光发射光谱看，营养胞有三个峰，分别在590nm、660nm和680nm处，590和660nm是藻胆素的峰，680nm是光系统Ⅱ的峰；而异型胞有二个峰和一个肩，而这两个峰也明显比营养胞的低。这也说明异型胞中藻胆素少，系统Ⅱ活力也很低，此结果与有关报导有所不同，有关报导说异型胞中缺乏系统Ⅱ，本实验结果证明在异型胞还存在微弱PSⅡ的荧光发射峰。

从毛细胞的荧光发射光谱看，在680nm处有一小峰，而缺乏藻胆素的发射峰。这说明在头部毛细胞和基部毛细胞中也有少量的PSⅡ活性。

UNiVA显微分光光度计对细胞学研究是一有力工具，可以对细胞进行单细胞分析，排除了细胞之间差异的干扰，可以对细胞进行不同层次的分析，排除溶液系统的干扰。这样为细胞的研究提供了一个更方便更准确的方法。

*：北京大学生物系生命科学研究中心。
**：中国科学院植物研究所，北京。

菠菜、水稻叶绿体DNA的分离与纯化

娄世庆　徐德平　袁建国　匡廷云

中国科学院植物研究所光合室

植物通过光合作用合成的有机物占植物干重的95%以上，但目前大田作物光能利用效率很低约1－2%，可以预料人们在掌握和控制了光合作用光能转化效率之后，将会对农作物产量大幅度提高具有深远的影响，在光合作用研究机理及叶绿体分子生物学研究的基础上，通过基因工程的手段，改造作物光合作用特性，将培育出高光合效率及高产的农作物新品种，模似光合作用高效吸能、传能和转能效率，可以研制高效的光能转换器，摸似光合作用在常温常压下，用可见光推动，使水裂解制氢、开辟太阳能利用的新途径。

在我们的实验中，首先从菠菜着手，从菠菜叶绿体中提取了叶绿体DNA（简称ctDNA），我们比较了各种不同提取叶绿体DNA的方法。结合国外文献及我们实验目前所具备的条件提出了提取叶绿体DNA的最佳方案，并经琼脂糖凝胶电泳纯化和Cscl梯度离心纯化都获得纯度较高的叶绿体DNA，A260／A280比值都在1.70左右。A260／A280比值都在1.90左右，Cscl梯度离心测得菠菜叶绿体DNA的浮力密度为1.697g／cm－3，与文献报道结果相近，所提取的叶绿体DNA初步经

制性内切酶酶切分析，都可被完全消化。在菠菜作为材料的实验基础上，我们又从水稻叶绿体中提取了叶绿体DNA，並建立了提取水稻叶绿体DNA的最佳方法，水稻叶绿体DNA的提取是比较困难的，这也是目前对水稻叶绿体DNA上的基因结构与功能研究比较少的主要原因，提取水稻叶绿体DNA首先要提取出完整而又无细胞核与线粒体污染的纯的叶绿体，水稻叶片由于其细胞壁的严重硅质化和加厚，这给提取水稻叶绿体DNA增加了困难，而且得率不高，我们比较了日常常用的叶绿体DNA的提取方法再结合水稻材料本身特点，经过改造，建立了适合于从水稻中提取叶绿体DNA的最佳方法，它在纯度和得率方面都得到较为满意的结果。我们提取关键的问题是在于：在无水冷冻条件下提取叶绿体，並用梯度离心纯化叶绿体，并进一步从纯化叶绿中提取叶绿体DNA，结合水稻材料的培养条件与要求，我们建立了提取叶绿体DNA的最佳方案、並且这一方法也适用于许多类似于水稻以外的其它材料，我们将此法为"无水法"，因此，我们改进建立的这两种叶绿体DNA提取方法，将分别适用于不同类型的植物材料，这对我们进一步研究叶绿体DNA是很关键重要的一步。

紫外光辐射对陆生蓝藻N. flagelliforme固氮作用的影响

钟泽璞　王发珠

（中国科学院　植物研究所　北京）

自然分布于我国新疆、内蒙及宁夏等荒漠半荒漠地带的陆生蓝藻N. *flagelliforme*，俗称发菜，其藻丝包于胶质海绵状细微结构的共鞘内，以相当高的持水力适应干旱和强烈的日光暴晒的着生环境。干燥或重新吸水后的藻体在紫外光照射2小时后仍可维持其正常固氮酶活性的60%左右。甚至干燥或吸水后照射24小时，分别能维持固氮活性60%和20%。紫外光辐射调节的类黄酮生物合成，又仅过来吸收紫外光，从而对其杀伤和抑制藻体的某些生理生化过程起到一定程度的保护作用，这可能是这种蓝藻抗紫外光辐射机能的一种生化基础。

大豆叶片光合作用与淀粉的积累和作用

许守民　苗以农

（东北师大生物系）

对6个栽培大豆品种（*Glycine Max*（L.）Merr）的叶片光合速率和淀粉含量及其在不同组织细胞中的积累动用所做的测定和分析表明：

大豆叶片的比叶重呈明显的昼夜变化，从早晨8点的最低值随光照增强而上升，下午14—16时达最高值，以后随光强减弱及夜晚的到来而下降。对叶片淀粉含量的测定证明比叶重的变化主要是由淀粉含量的变化引起的，其日进程与比叶重的日进程相似。

大豆叶片栅栏细胞一般为两层，但某些新品种及高产品种叶片中原来的两层栅栏细胞在发育过程中都可能分裂而形成了或4层栅栏细胞，而淀粉的积累和动用在这些细胞中呈较严格的区隔化（Departmentation）和昼夜及季节变化。其中中上层成熟叶片中第一层栅栏细胞始终处于明显的白天积累淀粉而夜间动用的状态，而第2层栅栏细胞及海绵组织则白天积累的淀粉夜晚很少动用而长期积累。这种区隔化现象在幼嫩叶片不明显，随着叶片长成而表现显著，随着叶片衰老其区隔化作用又趋于消失，即第2层栅栏细胞及海绵组织长期贮存的淀粉在叶片衰老前全部动用出去。叶片中这种区隔化作用可以通过细胞分裂传给子细胞从而使子代细胞在淀粉积累动用的特性上与其分裂前的母细胞一样。

生育期不同叶片的光合速率和淀粉的区隔化程度亦不同，但两者均表现相似的规律：即幼苗期（V2—V3）光合开始逐渐上升，至盛花期达到高峰，而此时淀粉区隔化也表现明显。以后各期中光合速率可保持在较高水平上进行，在鼓粒后期便开始逐渐下降。值得注意的是在叶片变黄前2—3天，叶片的光合速率出现"猝发"式的升高，维持1—2天后迅速下降，接着就是叶片变黄。此光合速率的升高现象与叶片中区隔化消失的时期相近。这意味着第2层栅栏细胞及海绵组织贮存的淀粉对细胞的光合活性有抑制作用。

农用光生物学与技术研究

唐树延

（中科院长春物理研究所）

农用光生物学是近年来发展起来的农用新学科，而光生物农用技术已被看作是“有机农业”新技术标志之一，它和农业化学、生态学並列，成为影响农业发展的三大重要科学技术。这不仅因为它所研究和开发的对象是建立在生物资源可循环基础上的生物体，太阳能资源利用，而且还因为它对解决粮食、能源、环境和健康等问题能发挥重要的作用，並显示了许多诱人的前景。

从资料上看，目前国外对农业光生物学与其技术研究，仍处于零散的效应试验阶段，对于与推广应用有关的技术和条件的报导甚少。在加拿大、北美和南美洲山区用叶绿素荧光技术培育出耐寒玉米群体；美苏等国研究出紫色薄膜对茄子增产，兰光能提高草莓产量，並设想利用具有高光效和其他理想性状的基因转移到另一品种中去，以增强光合效率，大幅度地提高产量。

我们在研究作物光能利用，光合作用和光生物学基本光物理过程的同时，利用光生物技术，结合粮豆菜增产做了大量的研究和示范推广工作：如增加冠丛林木下生长的多年生阴生植物的光照强度，通过遮荫棚式结构和光谱光质的改善，对于长白山地区的人参生长光能条件，做了多方面工作，使人参作物得到增产，仅长白朝鲜族自治州的一个县一九八六年人参增产达５０余万公斤，创收益达千万余元。根据不同果菜和叶菜类作物生长过程中，对不同光质有不同要求，我们研制出一种促进菜类生长的光助素，经吉林、辽宁、山东等地试用，效果良好。並对某些营养成分，如维生素和多种氨基酸均有不同的增值效应。又将生物和有机大分子发光材料混进大棚和地膜中去，以获得光转换薄膜用于农业生产，也取得了明显地增产效果。总之，农用光生物学对于促进和发展农业生产潜力很大，而且光生物学技术是种无污染，无公害，不耗能源的新技术。

光生物学农用技术是以光合作用能量利用，光谱光质技术，光形态建成原理，光生物学量子效应等为基础的一门跨学科理论，以基础光电子转移和动力学过程为解释依据，这方面的有关激子扩散理论和相干能量效应等机制和模型尚在探索研究之中。

光合作用中天线与中心色素分子间的相干能量转移机制的探讨

马英忠　唐树延

（中国科学院长春物理所）

综合国内外光合作用中光能吸收、传递与转换的最近研究成果，我们提出了光合作用中天线与中心色素分子间的相干能量转移模型。视RC周围分子成点阵排列，利用周期性边界条件及相干与非相干激子运动理论，建立了以初始激发分子为顶点、初始激发分子同中心分子连线为轴线、激子波矢K为母线的园锥立体角Ω，波矢K，相干时间t等为参量的能量传递速率方程。由于激子波矢K在空间各方位上的分布几率一致，仅设$\Omega \leqq \pi$内的激子迁移为类波式，其余激子的大部分则因其相干时间相对短于运动至RC的时间，而被视为扩散迁移。相干激子迁移的群速近似为：

$$V_g(k) = \frac{2\beta a^2 k}{h}$$

我们用计算机进行了浮获曲线理论拟合和计算，二者符合较好。

采用相干激子理论模型及计算，讨论光合作用能量过程尚有争论，但它能有助于从本质上了解该能量过程。

人参高光能利用理论研究

彭俊彪　唐树延

（中国科学院长春物理所）

阴生植物—人参需光很独特。它惧怕直射强光，喜欢散射光。因此适宜的光照，有利于提高其光合作用，高效利用光能。本工作从光合速率概念出发，用理论分析方法给出饱合光强与最大光合速率之间的关系及其膜透射率的理论公式，并对五年生人参膜进行了具体计算，给出的结果与实验比较符合。

这里指的最大光合速率是：考虑了光照强度与光合速率的关系，将其它因素视为独立的不变量。这样，最大光合速率 G_m（$Co_2 g/S.Cm^2$）将单值对应饱合光强 I_m（lex）。（如图1）外界光透过膜后，被人参叶片吸收并传递到反应中心，其中每一步都伴随着能量损失。（如图2）首先是膜的吸收，设吸收系数为 α，透射系数 $T=1-\alpha$。其次，人参叶片的反射、透射。设反射、透射系数分别为 n_1、n_2。再次，叶片吸收光子后能量传递的几率也是有限的。为计算这种传递几率，我们建立了一个简单模型。假设有2个色素分子，一个处于吸收光能后的激发态，另一个处于基态，色素分子经过一次传递后，光能便被反应中心俘获（因为色素分子吸收光能后，都趋向于向反应中心传递，因此这种假设是可行的）。这样，由量子理论可以导出光子的吸收、自发辐射几率分别为：

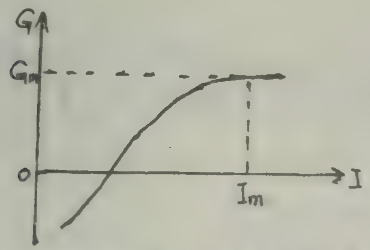


图1. 光照强度I与光合速率G的关系曲线

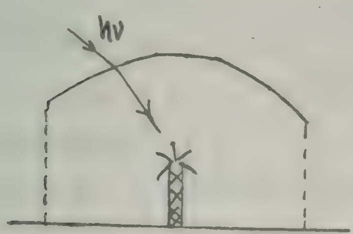


图2. 太阳光路途径

$$n_3 = \frac{4\pi^2 e^2}{3h^2} \left| I(w) \quad r_{o1} \right|^2 \quad \cdots\cdots(1)$$

$$n_4 = \frac{4e^2 w^3}{3hc^3} \left| r_{o1} \right|^2 \quad \cdots\cdots(2)$$

其中：e 是电子电量；h 为普朗克常数；I（w）是单位频率间隔的能量密度；

r_{o1} 是基态到第一激发态的跃迁矩阵元。即：

$$r_{o1} = \int_{\tau(全空间)} \psi_o r \psi_1 dr \quad \cdots\cdots(3)$$

近似取氢原子波函数：

$$\psi_o(r) = \frac{2}{\sqrt{4\pi} \quad a^{3/2}} e^{-r/a} \quad \cdots\cdots(4)$$

$$\psi_1(r) = \sqrt{\frac{3}{4\pi} \quad \frac{1}{(2a)^{3/2}}} \left(2 - \frac{r}{a}\right) Cos\,\theta e^{-r/2a}$$

$\cdots\cdots(5)$

其中 a 为玻尔半径，且 a＝0．529A。将（3）、（4）、（5）式代入（1）、（2）两式得色素分子的能量传递几率为：

$$n_3^* = n_3 \cdot n_4$$

$$= \left(\frac{8192}{59049}\right)^2 \frac{\pi^2 e^4 w^3 a^4}{h^3 c^3} I(w)$$

$\cdots\cdots(6)$

通过上面的分析，我们便可以寻出 I_m 与 G_m 之间的关系。当光合速率为 G_m 时，可知对应吸收 Co_2 的个数，再根据每吸收 1 个 Co_2 需 8 个光量子参与反应。可得总需光子数为：

$$P_2(个光子/S\cdot cm^2) = 1.096 \times 10^{22} G_m \quad \cdots\cdots(7)$$

进而得到人参叶片应吸收的光能量：

$$I(lex)=\int_0^{\infty} 685\times10\,\varnothing(w)\frac{P_2}{n_3^*}\,hw\,m(w)\,dw \qquad \cdots\cdots(8)$$

其中$\varnothing(w)$为光见度函数，$m(w)$为单位频率间隔的光子数密度。进一步可推出饱和光强：

$$I_m(w)=\frac{1}{1-n_1-n_2}I$$

$$=\frac{3.75\times10^{23}}{1-n_1-n_2}G_m^{1/2}\int_0^{\infty}\frac{\varnothing(w)}{w}m(w)\,dw \qquad \cdots\cdots(9)$$

假设膜外总光照强度为$I_{总}(lex)$，则膜的透射率为：

$$T=I_m/I_{总}$$

$$=\frac{3.75\times10^{23}}{(1-n_1-n_2)I_{总}}G_m^{1/2}\int_0^{\infty}\frac{\varnothing(w)}{w}m(w)\,dw \qquad \cdots\cdots(10)$$

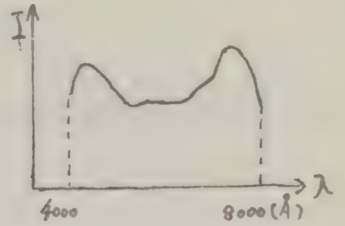
到此。我们从理论上导出了饱和光强I_m与最大光合速率G_m的关系式及膜的透射率T的数学表达式。下面对（9）、（10）两式进行讨论：

（1）上面（9）、（10）两式中不含人参作物的特征量。因此满足图2情形的作物都适用于（9）、（10）两式，包括地膜情形，只是保证此时苗还没有透出地膜。对无膜情形，只需设$T=1$，得到$I_m=I_{总}$，（9）式仍然适用。

（2）关系式（9）中$I_m \alpha G_m^{1/2}$是指光照强度$I\leqq I_m$时成立，当$I>I_m$时不成立。

（3）我们取长白山区平均年日照最强时的光照度$I_{总}=1.8\times10^5$ lex，对五年生人参，测得$n_1=8\%$，$n_2=6\%$，$G_m=9.5CO_2mg/h\cdot dm^2$。再利用人参叶片吸收光谱（如图3）。可算出膜的透射率为

T＝31.2%。这个数值与我们在长白山参场多年摸索的结果相吻合。反过来，也给我们的实际T值找到了理论依据。另外，对于其它不同年生的人参，其膜的透射率都可如此计算。



光质对大豆类囊体膜成分和功能影响的研究

刘立侠　唐树延

（中国科学院长春物理研究所）

光是调节植物代谢的基本因素之一，利用不同光质的影响是研究植物光合作用形态建成及生理代谢等方面的重要手段。为探讨大豆生长及其类囊体膜的发育与光、光质的相互关系，我们设计了红光、兰光、绿光、白光、红兰光和红兰绿光六种光源，对生长在同等光强（50 uE/m²·s）这六种光条件下盆栽大豆的生理性状、类囊体膜的结构和功能及光谱特性进行了测定和分析、结果表明：

1. 红光诱导大豆具有阴生植物的特点，兰光诱导大豆具有阳生植物的特点。生长在红光下较兰光下的大豆具有较高的叶绿素含量，较低的叶绿素 a／b 值，较多的捕光色素 2HC含量，较少的光系统Ⅱ反应中心CPa和光系统Ⅰ的叶绿素含量。兰光下的大豆光系统Ⅰ叶绿素含量相对较高，电子传递速率和叶片光合速率均较高。绿光下大豆类囊体膜的发育是较弱的，叶绿素含量和光合速率较低。

2. 低强度的复合光（白光、红兰光和红兰绿光）和红光一样诱导大豆具有阴生植物的特点，复合光下的大豆类囊体膜较兰光下的类囊体膜有较高的叶绿素含量，较低的Chl a／b 值，较高的光系统Ⅱ叶绿素含量和较低的光系统Ⅰ叶绿素含量。

红兰光的组合照射相对有利于大豆类囊体膜的发育。在此基础上增加绿光，并未显示出增加光谱范围的优越性。

3．不同光质下大豆类囊体膜吸收光谱、荧光光谱和喇曼光谱的测定，进一步肯定了以上的结论。复合光下较单质光下的类囊体膜利用红区能量的能力强，红光较兰光和绿光更有利于Chl b的形成。复合光和红光下的类囊体膜PSⅡ（F682）的荧光发射较强，兰光和绿光下的类囊体膜PSⅠ（F735）的荧光发射较强。大豆类囊体膜的叶绿素分子喇曼光谱十分丰富，可分三个振动活性区段，红光下类囊体膜的叶绿素卟啉环C=C键和C=N键的喇曼谱较强。

光质对大豆类囊体膜的结构、成分和功能的影响是明显的，但光质调控类囊体膜发育的机制，尚在探讨之中。

光质对Rp、Capsulata N_3的光放氢活性的效应

孙　琦　胡　畏　崔卫东

（浙江大学生命科学研究室）

光合细菌的光放氢活性是固氮酶的一种功能。以往，人们只注意到光强对固氮酶的合成与活性，和对光放氢能力的影响，尚未有过关于光质效应的报导。

我们研究了偶氮染料活性艳红×－3B对荚膜红假单胞菌N3（Rhodopsendomonas Capsulala N3）的光放氢活性的效应。当N3生长在含0ppm、10ppm、10^2ppm及10^3ppm染料的培养液内时，菌体所接受的白光强度从7500lux，递减到1400lux而其中的红光比重当然是递增的。实验结果说明N3的光放氢活性随染料浓度的升高而增强，10^3ppm组达到对照组的3－4倍，但各组菌体内的ATP水平却维持在一个相对稳定的水平。在相应强度的白光下，N3的放氢活性和细胞内的ATP水平又都是随着光强的递减而减弱的。

长期生长在含10^3ppm染料的培养液内的菌体在相同的白光强度下，其放氢活性类对照组很接近，而在含10^3ppm染料的培养液或染料水浴中时，

无论其为处理菌体或对照菌体，放氢活性均为白光下的3—4倍。另外，如都用白光照射时，不论哪一组处理，在强光下的放氢活性均高于在弱光下的放氢活性。

以上各实验结果说明光质对N 3的放氢活性和ATP水平具有增强效应，活性艳×—3B主要起光质的过滤作用，其本身对荚膜红假单胞菌N 3的化学作用是很不明显的。

光放氢活性，ATP的形成 利用及固氮酶的合成类活性等等环节之间的关系极为复杂，光质对之如何起调节作用也是很不清楚的，我们正在继续探讨这一问题。

活体的萝卜抗坏血酸氧化酶催化抗坏血酸有氧氧化的TDP效应研究*

冯万勇

（重庆大学）

TDP即特定电磁辐射，是由经过特别选定的多种物质及其不同存在状态的组合，在一定温度场作用下，发射0.2u—50u的电磁波。该器自问世以来，在应用方面取得了极大的效益，在基础理论方面，目前已深入到人体，动物免疫能力的影响，及动植物体内代谢酶活性的影响。据报道，TDP对水稻幼苗生长过程进行处理后，能极显著提高其中抗坏血酸氧化酶的活性，本文首次以酶动力学和分子光谱的角度探讨TDP对酶活性的影响。

26.0℃，PH=7.00，TDP处理萝卜9小时后的粗提取R—AoD 萝卜抗坏血酸氧化酶）和H_2A（抗坏血酸）3小时后，三个TDP处理的H_2A氧化体系的V—〔S〕曲线呈抛物线型，偏离米氏规律，该曲线的上升部分符合米氏规律。实验测得参比体系的最大反应速率$V'm=5.301\times10^{-6}M.Min^{-1}$，表现米氏常数$K'm=3.420\times10^{-5}M$，对于R—AoD（TDP 9 h）+$H_2A$+$O_2$体系，$V'm=5.186\times10^{-6}M\cdot Min^{-1}$，$K'm=4.525\times10^{-5}M$。

R－AOD＋H_2A（TDP3h）＋O_2体系，$V'm=5.881\times10^{-6}M\cdot Min^{-1}$，$K'm=3.359\times10^{-5}M$，R－AOD（TDP9h）＋$H_2A$（TDP3h）＋$O_2$体系：$V'm=5.608\times10^{-6}M\cdot Min^{-1}$，$K'm=4.451\times10^{-5}M$。TDP处理后的UV谱图在特征吸收处均降低，尤其在265nm处。与相似条件下的红外辐射处理的体系相比较，TDP具有不同于红外辐射的特殊效应。

*系国家自然科学基金资助。蒙重庆大学的谭辉玲副教授，中华全国TDP研究会副理事长、西南农业大学杨大棋教授指教，特此致谢。

离体的黄瓜抗坏血酸氧化酶催化抗坏血酸有氧氧化的TDP效应研究*

冯万勇

（重庆大学）

TDP即特定电磁辐射，指由经过特别选定的多种物质及其不同存在状态的组合，在一定温度场作用下，发射0.2u—50u的电磁波。该器自问世以来，在应用方面取得了极大的效益，在基础理论方面，目前已深入到人体，动物免疫能力的影响，及动植物体内代谢酶活性的影响。据报道，TDP对水稻幼苗生长过程进行处理后，能极显著提高其中抗坏血酸氧化酶的活性，本文首次以酶动力学和分子光谱的角度探讨TDP对酶活性的影响。

26.0℃，PH＝7.00时，在离体的C－AOD（黄瓜抗坏血酸氧化酶）粗酶和H_2A（抗坏血酸）各处理TDP4小时后，三个TDP处理的H_2A氧化反应的V－〔S〕变化关系呈双曲线，符合米氏规律，且各处理体系的表现最大反应速率$V'm$和表现米氏常数$K'm$均比参比系低。除f体系〔C－AOD＋H_2A（TDP4h）＋O_2〕可看成非竞争性一反竞争性混制，其它e体系〔C－AOD（TDP4h）＋H_2A＋O_2〕和g体系〔C－

AoD (TDP 4h) + H_2A (TDP 4h) + O_2] 不能归入常规抑制类型，属异常现象。从各V－[E]变化关系看，e、f 体系属于不可逆抑制，g 属于可逆抑制。TDP处理的C－AoD在 190－700 nm 范围的吸收均降低。把TDP看成试剂R时，提出如下的反应机制：

$$
\begin{array}{ccccc}
E + S & \underset{}{\overset{K_s}{\rightleftharpoons}} & ES & \xrightarrow{k_o} & P + E \\
K_i \upharpoonleft\downharpoonright R & & K_i \quad R & & k_o' \\
ER + S & \underset{K_i}{\rightleftharpoons} & ERS & \longrightarrow & P + E
\end{array}
$$

具有米氏方程的形式：

$$V = \frac{V'_m[S]}{K'_m + [S]} \qquad V'_m = V_m \frac{K_i + \frac{R'_o}{R_o}[R]}{K_i + [R]}, \quad K'_m = K_s$$

与相似条件下的红外辐射处理的体系相比较，TDP具有不同红外辐射的特殊效应。

*系国家自然科学基金资助。蒙重庆大学的谭辉玲副教授，中华全国TDP研究会副理事长，西南农业大学杨大棋教授指教，特此致谢。

发状念珠藻 (Nostoc flagelliforme Born. et Flah.) 红色蛋白的初步分析

方昭希（北京大学生物系）

王品靓（清华大学生物系）

发状念珠藻俗称发菜，陆生，藻丝中具异形胞，可食用。在提取和分离该藻的光合作用辅助色素藻胆蛋白类时，发现该藻除含有藻蓝蛋白和别藻蓝蛋白外，尚含有一种红色蛋白。在可见光范围内其吸收高峰在 510 nm，其荧光发射峰

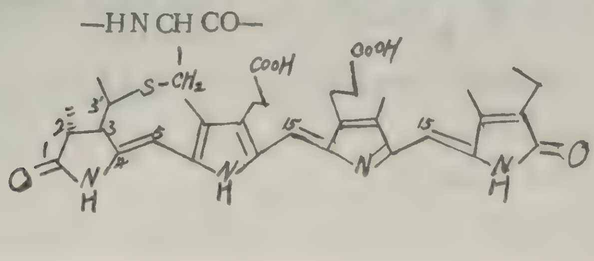
在642nm。这些光学特性不同于藻红蛋白，也不同于藻红蓝蛋白。将此红色蛋白经过DEAE—DE52离子交换层析和聚丙烯酰胺凝胶电泳纯化后进行了氨基酸组成、园二色性谱，激光雷曼光谱等等的测定和分析。实验结果表明，该红色蛋白的氨基酸组成中，含量较多的是天门冬氨酸、谷氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸和甘氨酸，其含量都占氨基酸总量的9%以上。从园二色性谱计算出，此红色蛋白分子结构中，α螺旋占27%，β折叠占25.7%和无规卷曲占47.2%。在雷曼光谱上，强峰和弱峰有9个，最强的峰代表烷基吡咯，其余的峰各代表氨基、羟基、酰胺、甲基、烷基、 色氨酸和苯丙氨酸等。从这些初步实验结果来推测，此红色蛋白可能是一种含吡咯的类似于藻胆蛋白的色蛋白。其详细结构和生理功能尚待进一步研究。

藻蓝蛋白生物合成模型反应：藻蓝胆素的硫醚键形成

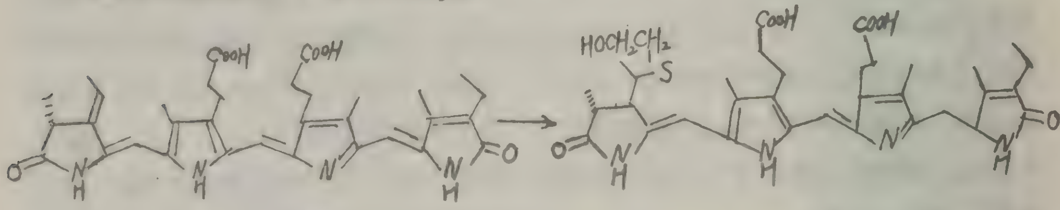
易国良　蒋丽金　马金石

（中国科学院感光化学研究所　北京）

藻蓝胆素是藻蓝蛋白的发色团，藻蓝蛋白在藻胆体内具有传递光能的作用。实验证明：当5—氨基—4—氧—戊酸用红藻Cyanidium Caldarium温育，细胞合成并排泄出游离的藻蓝胆素〔1〕，因此人们认为带亚乙基的藻蓝胆素是藻蓝蛋白生物合成中的中间体，硫醚键的形成可能是色蛋白生物合成中的最后一步。在藻蓝蛋白中藻蓝胆素与蛋白结合后的结构是：



我们通过甲醇回流法断裂藻蓝蛋白得到藻蓝胆素，并进一步酯化为藻蓝胆素二甲酯 1。用甲醇作溶剂，氨水催化，在氩气保护和室温条件下，化合物 1 和巯基乙醇反应，得到化合物 2。



1　　　　　　　　2

反应物的转化率达100%，反应的产率可达80%以上。产物2的立体化学根据Rudiger 1979年发表的研究结果〔2〕和我们所得到的化合物 2 的 ¹HNMR谱图，新产生的不对称碳原子—3的绝对构型可能主要为R构型，与藻蓝蛋白中藻蓝胆素 3 位碳的绝对构型一样，这主要由于反应过程中绝对构型为R构型的 2 位不对称碳原子的诱导所致，3′位的不对称碳原子有R、S两种立体异构体。

我们还利用高压钠灯作光源，二氯甲烷作溶剂，化合物 1 也可与巯基乙醇反应生成化合物 2，产率也可达80%以上。这是一个非常有意义的结果，尽管在自然界中，不能排除碱催化使蛋白中的半胱氨酸残基与藻蓝胆素反应而成为藻蓝蛋白，但是完成这个过程时光作用的可能性更大。

我们还讨论了化合物 2 的自由碱基型、阳离子型、锌络合物的紫外可见光谱、荧光光谱性质，和 2 在胶囊溶液中的紫外—可见光谱、荧光光谱性质，以进一步讨论 2 在溶液中构象的变化、探讨藻蓝蛋白在藻胆体内光能传递的机理。

参考文献

1. R. F. Troxler, P. Kelly, and S. B. Brown, Biochem. J., 172, 567—576(1978).

2. G. Klein and Wolfhart Rudiger, Z. Naturforsch., 34C, 192—195(1979).

藻胆蛋白荧光动力学初步研究

彭程航　梁　丽　张美荣　王秀英　练永宁

中国科学院　生物物理所

光合生物为了吸收太阳光和传递吸收的能量到光化学反应中心已经进化了若干种捕光“天线”系统。在红藻和兰绿藻中捕光系统是由藻红蛋白（ＰＥ），藻兰蛋白（ＰＣ）和变藻兰蛋白（ＡＰＣ）组成的藻胆体。在藻胆体中能量传递的路线是ＰＥ—ＰＣ—ＡＰＣ〔１〕。传递的效率在９９％以上，超过任何人工设计的仪器。研究其光能转换的机制具有重大实践意义。在最近的研究中〔２〕表明，能够通过测量分离的藻胆蛋白的荧光动力学来追踪能量的传递。本文报导用荧光光谱和时间分辨ｎｓ荧光技术的初步研究结果。

从江苏省吕四海滨产的条斑紫菜中获得Ｒ—藻红蛋白（ＲＰＥ）和Ｃ—藻兰蛋白（ＣＰＣ）。其吸收光谱见图１。在ＨＩＴＡＣＨＩ　ＭＰＦ—４荧光光谱仪上测定其荧光激发和发射光谱，分别见图２和图３。从图２可见，在

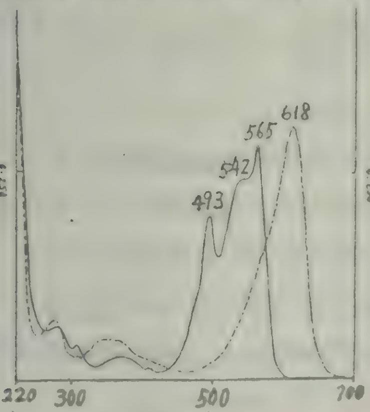


图１　紫外可见吸收光谱

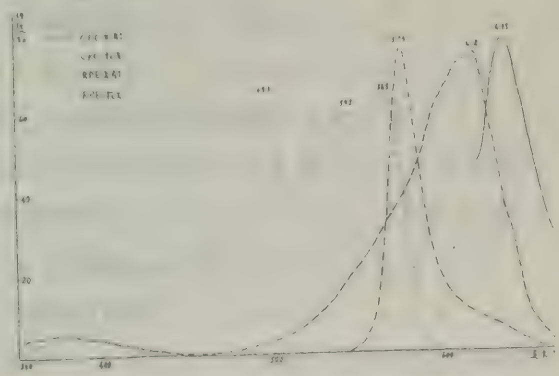


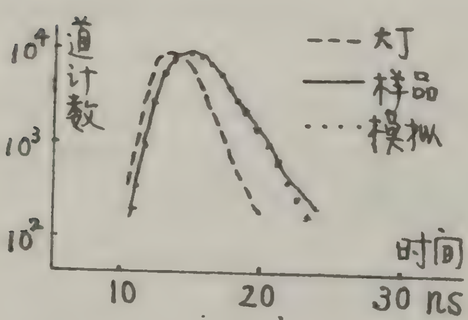
图２　Ｒ—藻红蛋白和Ｃ—藻兰蛋白荧光光谱

ＰＨ６．２５的生理盐水ＲＰＥ（浓度为６．７５×１０$^{-2}$ｍｇ／ｍｌ）有三个最佳激发波长，４９３ｎｍ，５４２ｎｍ和５６５ｎｍ，实验表明均产生同样的发射光谱（λｅｍａｘ５７４ｎｍ）。这意味着ＲＰＥ至少有三种能量不同的

本课题获得国家自然科学资金和中国科学院重大课题及中关村地区联合测试分析中心资助

激发态。相应于542nm和565nm波长的激发态都快速地驰豫并且非辐射地回到第一激发单重态。547nm表征第一激发单重态与基态能量差。图3表明CPC的激发光谱与图2RPE的发射光谱部分重合，则RPE发射出的某些光子完全有可能为CPC吸收而产生出激发态，后者的发射谱与APC和叶绿素a吸收率（～650nm和678nm）交迭。因而当藻红蛋白捕获565nm波长光子时，就能将光能有效地传递给叶绿素a，到达光合反应中心。

在生物物理所设计制造的时间分辨ns荧光谱仪上测定荧光寿命。经过实验表明当498nm，542nm，565nm，以及618nm，灯谱强度较弱时用较强的357nm波长激发，同样可以测定RPE和CPC的荧光寿命，见图3和图4。经计算机解卷积程序处理荧光时间衰减曲线，获得RPE和CPC的荧光寿



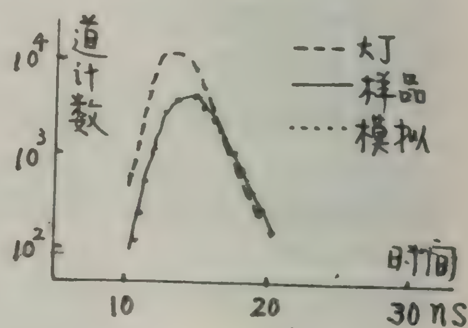


图3. RPE荧光衰减曲线　　　图4. CPC荧光衰减曲线

命分别为3.1(0.2)ns和1.8(0.2)ns。这与J. Grabowski et al.〔3〕测定的紫球藻B—RE的荧光寿命（τ_o＝3.3＋0.3ns）接近。而CPC与文献报导（τ_o＝2.2＋0.2ns）相比偏小。这与我们观测到CPC荧光寿命在我们的实验条件下随时间迅速衰减（约在3—4小时后，在毫微秒水平上不可测量）有关。

进一步的研究工作正在进行中。

本工作得到邹承鲁先生蒋丽金先生支持，在此一并致谢。

参考文献

〔1〕Gantt et al., (1973) Biochim. Biophys. Acta 292, 858—861

〔2〕D. Wong et al., (1981) Photochemistry and Photobiology. 33, 651—662

〔3〕J. Grabowshi et al., (1978) ibid. 28, 39—45.

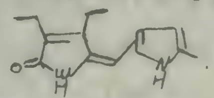
β—环糊精对单、双及四吡咯化合物的包络及其光谱研究

陈金华　马金石

（北京·中国科学院感光化学研究所）

摘　要

应用环糊精（Cgclodextrin，CD）的特殊结构和性质[1]，在水溶液中制备3β—CD与甲基乙基马来酸亚胺（MEM）的包络物，在水中重结晶了MEMCD，用元素分析确定了MEMCD的包络比为1：1，在400MHz，¹HNMR中，研究了MEMCD的可能结构，其甲基乙基的化学位移均向高场移动，且由于包络作用，使乙基端上的甲基分裂为两组三重峰。进一步研究发现，MEM—与β—CD的包络反应是分两步进行的。第一步在室温下就能进行，得到上述数据，第二步则要在水溶液中回流才能实现，在400MHz，¹HNMR谱中才观察到第二组MEM的甲基、乙基峰，且相对于第一组又向高场位移。由这一实验事实出发，我们合成并研究了二吡咯化合物

（  BP）和四吡咯化合物—胆红素（BilirubiⅨx，BRⅨx）的β—CD包络物。从¹HNMR和Uγ、萤光光谱等的巨大变化，可以说明包络以后的BRⅨα的空间结构发生了较大的变化。另外，对照BRⅨα和包络之后的BRⅨα在竹红菌甲素敏化下的光氧化反应速度，也证明了包络后的BRⅨα对光氧化的稳定性大为提高。本文目的在于寻找一个胆红素与血清蛋白结合的模型，以了解BRⅨα在蛋白或其它特殊环境中的立体结构，并研究结合胆红素和游离胆红素光化学性质的区别。

具放氧活性的光系统Ⅱ中心复合物的制备及其组份和光谱特性的研究

赵福洪　王可玢　许春辉　戴云玲

（中国科学院植物研究所光合作用研究室）

光系统Ⅱ为绿色植物所特有，也是光合作用中最重要的光系统。我们在过去分离光系统Ⅱ制剂的基础上进一步将其捕光色素蛋白复合物分离去除，制备出具有放氧活性的光系统Ⅱ中心复合物，其放氧活性高达520umolO_2. $mg^{-1}Chl\cdot h^{-1}$，比光系统Ⅱ制剂的活性提高约一倍，包的DCIP光还原活性也比原光系统Ⅱ制剂提高一倍多。

这种复合物与叶绿体和光系统Ⅱ制剂相比，其吸收光谱最明显的区别是叶绿素b所特有的650nm和480nm吸收峰消失。低温荧光激发光谱主要为叶绿素a的436nm峰。这些表明，此复合物不含有叶绿素b。已经知道Chlb主要是在光系统Ⅱ的捕光叶绿素蛋白复合物中，因此这就意味着我们制备的复合物中不含LHCⅡ。LDS--凝胶电泳的结果进一步证实了这点，这种复合物主要含有CPa带，三条属于LHCⅡ和二条属光系统Ⅰ的带均被去除。现一般认为CPa带为光系统Ⅱ中心色素蛋白复合物，由此可见我们制备的复合物为光系统Ⅱ中心复合物。其多肽组份与叶绿体相比也减少了很多，主要具有47、43、32、26、22、10KD多肽。

我们进一步对此复合物的CPa进行了分析，其低温荧光发射峰为691nm，位于光系统Ⅱ的两个荧光发射峰685nm和695nm中间，一般认为695nm与光系统Ⅱ中心有关，CPa的荧光峰为691nm表明，这与它是光系统Ⅱ中心色素蛋白复合物的特性是一致的。从四阶导数光谱看到，其色素组份主要为Chla—672，这与NakaTaNi等人认为反应中心色素主要为CMa—680形式不同。我们还看到此复合物的CPa与叶绿体和光系统Ⅱ制剂的CPa的光谱特性是有差异的，叶绿体CPa的四阶导数光谱中明显的有650nm峰，即含有Chlb，而此复合物的CPa无650峰，它们的荧光光谱特性也表明叶绿体的CPa中含有Chlb，反应中心复合物最纯，光系统Ⅱ制剂居中。

综上所述，我们制备的复合物具有较简单的组份，它不含有光系统Ⅰ和光系统Ⅱ捕光色素蛋白复合物，主要含有ＣＰａ，并具有较高的光系统Ⅱ活性（放O_2、ＤＣＩＰ光还原），是一种较纯的光系统Ⅱ中心复合物。

植物超弱发光测定条件研究

甘肃农业大学　董家伦　李树真

西北农业大学　郭洪飞

摘　要

本文利用Beckman LS 9800液体闪烁谱仪的单光子监测装置。探测了小麦叶、竹子叶片及加拿大杨树叶片及其他器官的自然超弱发光。样品是在单色光源下称取鲜重，暗适应2小时。并放入消除静电发光干扰的闪烁杯中进行测量的。生物超弱发光特征及反映特征参数。经统计分析后表明：干扰生物超弱发光的因素有静电发光、光致发光、经过时间及样品重量等。对上述因素作出校正的值能反映生物超弱发光情况。样品经1%3一氨基苯二甲酰肼润湿（PH一8）后。测量精度大大提高。且不必再作经过时间的校正。测量灵敏度比对照高出千倍以上。

国家自然科学基金支助项目

小麦、大麦、玉米苗期自然超弱发光动力学初探※

甘肃农业大学　董家伦　李树真

兰州国营中兴无线电厂　陆　军

摘　要

本文利用国营中兴无线电厂研制的BCL一发光测定仪。检测了渭麦4号、渭麦5号、71（25）、7852等小麦品种各2条、予大麦1号、矮早3、西引2号等

BCL—01型生物—化学发光测定仪

该仪器由兰州军区军事医学研究所和中国科学院兰州化学物理研究所共同研制，由国营中兴电子仪器厂生产。曾通过军事科学院组织的科研签定，并获全军科技进步二等奖。

本仪器适用于各种生物—化学发光的测定，广泛地应用医学，免疫学、微生物学、生物化学、临床检验学等领域。

本仪器带有微处理机，可对各种数据自动进行处理。可测定发光面积分值。瞬时发光值、峰高和峰时等项参数，配有可打印和显示各种参数的微型打印机和显示器，还可外接记录仪，记录发光曲线。

主要性能参数：

1、检验波长范围：2000Å～8000Å，最大响应波长4200Å

2、检测灵敏度：对ATP最小检出量2×10^{-12}克（样品：空白>1.5倍）

3、可检验最小峰宽0、5sec（峰半高宽）

4、非线性系数<3.5%

5、重复性：整机对固定波长的稳定光源读数重复性标准误差<0.6%

6、稳定性：整机读数稳定性变化<1%

7、供电电源：～220V±10%　　50Hz±2%

8、外形尺寸：40×30×20cm

9、重量：　7.5kg

主要性能参数均经中国计量科学研究院测试，测试结果通知书号　光字第04D—8704号

联系地址：兰州146信箱　　　　联系人：陆　军

大麦，以及意12—103、南—55、武早231等玉米品种，苗期不同育龄生物超弱发光动态变化。初步得出：生物超弱发光和供试作物的抗性有关。其单位鲜重发光积分值（$m \times \cdot s$）的次序，依次是：大麦>小麦>玉米；还显示出，生物超弱发光器官因苗期不同育龄而发生转移。本文还探讨了BCL—发光测定仪检测植物自然超弱发光的方法，以及测定条件。

※国家自然科学基金支助项目

pres$_2$的发光酶免疫测定

空军福州医院临床免疫研究室

刘小明　陈紫榕　陈仁英　郑　瑛

袁志英　周善健　李龙详

北京医科大学肝病研究所　陶其敏　纪和平

军事医学科学院基础所　陈　嘉

济南军区军事医学研究所　林台城

摘要　本文首次报道用发光酶免疫检测Pres.$_2$的方法。以抗Pres.$_2$单克隆抗体包被聚苯乙烯珠，加入待测样品（含Pres$_2$和HBsAg）和抗HBsHRP结合物，以鲁米诺—H_2O_2发光系统测酶结合物中血红素催化发光反应的能力。Pres$_2$检出率比ELISA稍高，重复性好，又无同位素污染的弊端，并避免了酶联免疫中底物的致畸、致癌作用。检测时间仅需24小时，比RIA或ELISA都快速，操作简便，值得推广。

关键词　Pres$_2$　发光酶免疫测定

乙肝病毒前S_2蛋白（$PreS_2$）是近年来引起大家关注的一种新的HBV标志物。其中在血中出现是HBV活跃复制的指征之一。$PreS_2$的检测。在HBV感染的防治中有十分重要的意义。

国外Pillot实验室制备了抗$PreS_2$单克隆抗体。建立了酶标检测法。国内北京医科大学肝病研究所首次建立了抗$PreS_2$单克隆细胞株。并开展了$PreS_2$的酶联。血测和金银法检测研究。

为进一步探索$PreS_2$的简便、快速、特异、敏感的检测方法。我们共同对$PreS_2$的检测开展了发光酶免疫测定（LEIA）研究。现报告如下：

材料和方法

一、标本：100例病毒性肝炎患者均为1988年2—3月间传染科住院病人。静脉采血。分离血清。是4℃冰箱备用。

二、抗体：1、抗$PreS_2$单克隆抗体：北京肝病研究所制备。2、抗HBS辣根过氧化物酶结合物：本室按过碘酸钠法制备。

三、材料：1、固相载体：直径为0.6cm的聚苯乙烯塑料珠。北京钮扣厂产品。2、FT632型生物一化学光度计：北京核仪器厂产品。

四、方法：1、$PreS_2$酶联免疫测定：用PH9.6 0.05M碳酸ef缓冲液稀释$PreS_2$抗体至一定浓度。包被固相载体振。4℃过夜。次日。用PH7.4 0.04 Tris—HCl含0.05%吐温20缓冲液洗涤三次。分别加入待测样品或阳性、阴性对照血清。置43℃一小时或37℃二小时。洗涤三次。加入适当浓度经70%牛血清PH7.4 PBS稀释的抗HBS辣根过氧化物酶结合物。是43℃1h或37℃2h。洗涤三次后。加邻苯二胺底物缓冲液显色。以酶标光度计（重庆）测OD值。以P/N值>2.1为阳性。2、$PreS_2$发光酶免疫测定：用PH9.0 0.025M碳酸ef缓冲液稀释Pres抗体至一定浓度。包被固相载体珠。4℃过夜。次日用10MN PBS吐温20溶液洗涤四次。分别加入待测样品或阳性、阴性对照血清于各管中。量43℃1h或37℃2h。取出洗涤四次。后加入适当浓度经2%牛血清PBS稀释的抗HB酶结合物。放43℃1h或37℃2h。洗涤4次。加入PH8.6 Tris—HCl缓冲液、0.01M鲁米诺—H_2O_2溶液，用FT632型生物一化学光

度计进行发光测定。待测样品发光 MF 数大于阴性对照2倍者判为阳性。

结　果

一、抗 HBs HRP 标记率 = A403nm / A280nm = 0.896 / 3.014 = 0.44

二、灵敏度：我们将100份病人血清和22份 Pres 阳性血清各0.1 ml 分别作酶联免疫和发光酶免疫测定。其检出率如表1和表2。

表1　病人血清 Pres 阳性率

方　法	检测数	阳性数	阳性率
ELISA	100	49	49
LEIA	100	52	52

表2　Pres 阳性血清的检出率

方　法	检测数	检出数	检出率（%）
ELISA	22	19	86.4
LESA	22	22	100.0

从表1和表2可见。发光酶免疫测定检出率较酶标法为优。但经统计学处理。无显著差异。

三、重复性：从表3看重复性是好的。各对照组 P/N 值均<2。样品组 P/N 值均>3。

表3 ELIA 检测 $PreS_2$ 重复性

试验	样品数	P/N比值		
		样品	对照 鲁米诺	对照 阴性
1—4	68	3.89±0.88	0.33	1.2
5—8	23	4.01±0.91	0.20	0.98

四、应用：1988年2—3月，福州甲肝流行时，应用本法检测402例甲肝患者的 $PreS_2$，阳性率高达19.9%，对甲肝流行时的乙肝防治工作有重要意义（详见另文）。

讨　　论

PreS 是HBV表面蛋白成份，其检测对乙肝的临床诊断和予后判断都有十分重要的意义。由于 PreS 是与 HBsAg 氨基末端相联接的多肽，仅在 HBeAg 阳性患者血清中才可检出，因此我们设计了发光酶免疫法测定 $PreS_2$。首先用抗 $PreS_2$ 单克隆抗体包被，加入待测样品（含 PreS 和HBsAg）和抗 HBsHRP 结合物，以形成 $PreS_2$／抗 $PreS_2$ 复合物和 HBsAg ／抗 HBs 复合物，再用鲁米诺—H_2O_2 发光系统测定抗 HBsHRP 中的血红素催化发光反应的能力，以取代 HRP 的酶活性，因而不需底物显色，避免了邻苯二胺、邻联甲苯胺及 ABTS 等底物的致畸致癌作用，安全性大。本法的 $PreS_2$ 检出率比 ELISA 高，虽无统计学意义，但说明其灵敏度好，重复性试验也证明是好的。检测时间仅需24 h，比 RIA和 ELISA 快，因此，本法具有微量物质免疫学快速诊断的优点，值得推广。

参 考 文 献

〔1〕夏孟琪等：中华医学检验杂志1987，10(4)：231
〔2〕张正等：临床肝胆病杂志1988、4(1)：37
〔3〕蒋成淦等：酶免疫测定法，P75，人民卫生出版社，1984，北京。

甲型肝炎流行时pres$_2$发光酶免疫测定的临床意义

空军福州医院临床免疫研究室
陈紫英　刘小明　李龙详
陈仁英　袁光华　周善健　郑　瑛
北京医科大学肝病研究所
陶其敏　纪和平

〔摘要〕 本文首次报道，用发光酶免疫法测定1988年2—3月间福州甲肝流行期，402例急性肝炎患者的Pres$_2$阳性率为19.9%；HBsAg、HBcAg、PHSA—R、抗HBC、抗HBC IgM和抗HBC IgA阳性率分别为21.6%、17.9%、13.9%、24.0%、19.5%和18.5%。提示甲肝流行时，HBV的混合感染或二重感染率高，这在流行病学、临床诊治和预后判断上都有意义。

用发光酶免疫测定HBsAg阳性者的Pres$_2$，检出率高达71.0%，与HBeAg抗HBC IgM、抗HBC IgA和PHSA—R等病毒复制指标相平行。这表明，Pres可能是病毒活跃复制的标志之一。由于本法简便、快速，且不受同位素或邻苯二胺污染，在甲肝流行时可广泛用于HBV复制活跃患者的检出。

关键词　甲型肝炎　发光酶免疫测定

甲型肝炎（甲肝）和乙型肝炎（乙肝）是两种极不相同的疾病。在甲型肝炎流行时。及时检出乙肝感染。尤其是乙肝病毒复制活跃的患者。在流行病学、临床诊治和预后判断上都有十分重要的意义。为此。我们于1988年2—3月间。对福州地区甲肝流行时的402名急性患者进行了 Pres 的发光酶免疫测定（LEIA）。现报告如下：

材料和方法

1、病人：402名患者全部都是1988年2—3月间在本院住院的急性病人。诊断标准按全国病毒性肝炎防治方案（1984、南宁）。

2、抗 Pres 单克隆抗体：北京医科大学肝病研究所制备。

3、抗 HBS 酶结合物：本室以抗 HBS 单克隆抗体和辣根过氧化酶用过碘酸钠法制备。酶／抗体克分子比为1：189。标记率为0.44。

4、聚苯乙烯塑料珠：北京钮扣厂生产。

5、HBSAg HgeAg 抗 HBC 抗 HBC IgM 抗 HBCIgA，均为 ELISA 法。PHSA—B 为 PHA 法。

6、FT632 型生物一化学光度计：北京核仪器厂产品。

7、$Pres_2$ 发光酶免疫测定：用 PH 9.6、0.025 M 碳酸 ef 缓冲液配成一定浓度的 $Pres_2$ 抗体包被聚苯乙烯塑料珠。4℃过夜。次日用10 MNPBS—Tween 20溶液洗涤4次。加入待测样品。并同时做阳性、阴性对照。43℃一小时或37℃二小时。洗4次。加入含2%牛血清 PH 7.4 PBS 稀释成一定浓度的抗一 HB_S 酶结合物。置43C一小时或37℃2小时洗4次。加入0.1MTris—HCl(PH8.6)0.01M 鲁米诺和0.01M H_2O_2 用 FT—362型生物一化学光度计测定。以待测样品发光强度比阴性对照发光强度高2倍者判为阳性。

结　　果

一、急性肝炎的 $Pres_2$ 阳性率：

402例急性肝炎的 $Pres_2$ 阳性率为19.9%。仅在 HBsAg 阳性患者中检出。其他 HBV 标志的阳性率见表1。

表1。402例急性肝炎的HBVM阳性率

	检测数	阳性数	阳性率%
Pre S	402	80	19。9
HBSAg	402	87	21。6
HBeAg	402	72	17。9
PHSA—R	402	56	13。9
抗HBC	354	85	24。0
抗HBC IgM	210	41	19。5
抗HBC IgA	210	39	18、5

二、Pre S_2与HBSAg关系

随机抽取69份HBSAg阳性血清。以发光酶免疫测定Pre S。阳性率为71.0%(49/69)。

三、Pre S_2与其它HBV复制指标的关系

随机抽取22份Pre S_2阳性血清。检测HBV复制指标如抗HBC、抗HBC IgM、抗HBC IgA、PHSA—R和HB Ag的检出数分别为22、19、20、8和19份。阳性率分别为100%、90。9%、86。4%、36。4%和86。4%。

讨　　论

一、甲肝流行时要注意HBV感染者的检出：

本组检测甲肝流行时的402名急性患者。HBSAg和抗—HBC的阳性率分别高达21。6%和24。0%。已有不少作者指出。HBSAg阳性者即使无症状。大多肝脏有轻微病变。甚至肝硬化。因此对HBSAg的阳性甲肝患者。在治疗上要特别注意原有的肝脏损害。此外。402名患者中。HBV复制指标的阳性率也很高。Pre S_2、HBeAg、PHSA—R、抗HBC IgM和抗HBC IgA阳性率分别为19。9%。17。9%、13。9%、19。5%和18。5%。对

这些病人的检出在病毒性肝炎的诊断、治疗、预后和流行病学上都有十分重要的意义。

二、$PreS_2$ 阳性率高：在甲肝患者中，$PreS_2$阳性率高达19．9％。在 HBsAg（＋）者则高达71％。这可能与发光酶免疫测定敏感性高有关。

三、$PreS_2$是HBV活跃复制的标志：$PreS_2$是HBV表面与HBsAg氨基末端相连接的多肽。国内陶其敏等[1]已制成抗$PreS_2$单克隆抗体，并已建立了酶联免疫和金银法用于检测$PreS_2$。本组随机检测22份$PreS_2$阳性血清，抗HBC全部阳性。抗HBC IgM、抗HBCIgA、PHSA—B和HB Ag的检出率分别为86．4％、90．9％、36．4％和86．4％。除PHSA一B外，其它各项均与文献报道 一致。在HBV感染中，PHSA—B是其它蛋白或自身白蛋白所引起的自身抗体所致为非特异性，其存在与患者免疫状态有关，与HBV感染中，PHSA一B意义完全不同。 本研究提示，$PreS_2$与这些HBV复制指标呈平行关系，$PreS_2$可能是病毒活跃复制的标志之一。由于本法检出$PreS_2$的阳性率高于这些指标，操作简便、快速，且不受同位素或邻苯二胺污染，在甲肝流行时以广泛用于HBV活跃复制者的检出。

参考文献

〔1〕陶其敏等：中华医学检验杂志
1987、10（4）：231
〔2〕Machida A et al Gastroenterol
1984、86：910
〔3〕张正等 临床肝胆病杂志 1988，4（1）：37

红外电磁辐射增强大豆种子生物微弱发光

谭辉玲

（重庆大学）

近年来国内外都很重视生物微弱发光的应用和基础研究。我们在对红外电磁辐射的生物效应作用机理的研究中。也考察了红外电磁辐射对大豆种子生物微弱发光的作用。为了客观地反映事实。是把大豆种子样品送内蒙古农牧学院同位素室请色莫代同志测定的。测定发光强度的仪器：美国 BECKMAN 产 LS-5801 型液体内烁计数仪。测定人并不知道样品受过红外辐射。大豆种子经精选并擦净后。等分两分。。一分受红外辐照。另一分不辐照。放旁陪伴。每天照一次。共10次。放置两个月后送去测定发光强度。测定时又分几种情况：干试样。蒸馏水浸湿不同时间的试样。然后跟踪测定各试样发光强度。结果发现干试样和对比样的发光强度有明显差异。（前者高于后者）达显著性水平。但是跟踪湿大豆萌发期的发光强度。未发现显著差别。

另外。还考察了上述试样第三天的发芽比率之差别。发现红外处理样比对比样约高10%。“科学通报”杂志曾报道一简讯。经和本文类似处理过的大豆。在电镜上发现其线粒体膨大（和对比样比较）。综合这些结果。本文初步认为大豆种子经红外辐照后。因增强代谢和有丝分裂速度而增强了生物微弱发光。我们还考察了这种红外辐射对蚯蚓断体再生的作用。发现明显增强其再生能力。40天后长出了头（或尾）。而对比样尚无再生迹象（有照片记录）。这对上述说法是一种佐证。它也说明红外电磁辐射增强大豆种子生物微弱发光。看来主要是增强了大豆种子有丝分裂发光的结果。

究竟原因如何。尚待进一步深入研究。

附：通讯处。四川重庆大学应用化学系物理化学室。

红外电磁辐射对抗坏血酸氧化酶及其酶动力学的影响

谭辉玲　冯万勇

（重庆大学）

本文涉及的实验内容是第二作者在第一作者指导下的硕士学位论文实验工作成果。

光生物物理学和光生物化学，目前主要论及紫外和可见光同生物的作用。但是，近年来国内外已越来越重视红外电辐射对生物的作用。不到拾年，国内已相继出现多种名称不同的“红外仪”用于治疗，甚至用于农牧业等，都纷纷获世界博览会金奖或其它种种奖励。但对这种生物效应进行其基础研究的人不多。本文较系统地考察了特定电磁波（简称 TDP）对抗坏血酸氧化酶及其催化动力学的影响。用了三种酶：模似酶 CU(Ⅱ) GLY，活体酶（粗酶），离体酶（粗酶）。

1、测定了受 TDP 辐射的 CU (Ⅱ) GLY 水溶液、CU(Ⅱ) EDTA 水溶液……多种试样的分子光谱，发现发生了明显变化，并跟踪测定 UV 谱随时间（每天测一次）的变化，发现一些有趣的振荡现象。

2、较系统地测定了 TDP 对 CU(Ⅱ) GLY 催化抗坏血酸有氧氧化反应动力学的影响，测定了酶活性和米氏曲线及其参数、活化能等，得到一些异常结果（如：Vm 增高，Km 也增高，在高底物浓度区米氏曲线下弯…）。

3、测定了 TDP 对抗坏血酸氧化酶（活体、离体粗酶）催化抗坏血酸有氧氧化反应动力学的影响，测定了米氏参数和酶活性，发现有增强酶活性的情况，也有降低活性的情况。

本文第二作者对 CU(Ⅱ)GLY 催化抗坏血酸有氧氧化反应，把 TDP 的影响作为一种“激活剂”，提出了一种反应机理，并推出了相应的米氏式。

这项研究正在进一步深入之中。正进一步考察以下方面内容：TDP 处理后的 CU(Ⅱ)GLY 配合物水溶液是否发生了水解聚合反应；反应机理；作量子化学计算考察反应途径、反应性能；据基元反应动力学理论计算反应速率等。

第一作者通讯处：四川重庆大学应用化学系物理化学室

第二作者的工作单位尚未选定，故写不出通讯处。

用超微弱发光探测技术监测冷冰和气功对人胎肝细胞生命状态的影响

空军总医院生化室

刘亚军　赵新华　肖　杰

解放军总医院低室医学研究室

刘作斌　张佑云　崔苏魁　徐亦青

我们利用空军总医院研制的 KZL—1 型超微弱发光仪。观察了人胎肝细胞在冷冻前后超微弱发光强度的变化。并观察了气功对其发光强度的影响。

人胎肝细胞取自6例4—5个月水囊引产的胎儿。实验样品分为四组：1、新鲜胎肝细胞。即用 TC—199 培养液制备的细胞悬液。2、冻存前。为含10% DMSO 低温保存液的胎肝细胞悬液。3、冻存后。细胞悬液成份同冻存前。但在液氮中（—196℃）冻存5—7天。测定时。在38℃恒温水浴中快速解冻。4、10% DMSO 低温保存液。不含胎肝细胞。每次测定样品的容积为1.0ml 各细胞悬液中的细胞含量基本相同（平均为 $3.72\pm2.67\times10^4$/ml）。

用台盼兰染色法在镜下计数100个细胞中的拒染细胞数作为细胞活存率。

KZL—型超微发光测定仪所测光谱范围内为300—650nm。积分时间10秒。仪器本底55±8/秒。

聘请中国气功科学研究会特约会员。著名气功师胡玉兰女士和赵永胜先生对实验样品发功。首先测定各组样品的正常值。然后将样品放在气功师右手掌的劳宫穴上。运气2分钟后测定样品的发光计数。即发功前值；发功后2分钟再测定其发光计数。是为发功后值；以低温保存液作对照比较。

结果表明。新鲜胎肝细胞的平均发光计数为111.40±38.14。活存率为87.50±6.35%；冻存后。其发光计数和活存率分别为新鲜细胞的92.24%。和64.68%。当新鲜胎肝细胞悬液中加入10% DMSO 冷冻保存液后。其发光计数升高到190.88±76.18。而冷冻保存液的发光计数仅为38.10±28.14。1例人胎肝细胞悬液在液氮中保存2年后。16次测得其发光计数的平均值为189.78±20.78。细胞活存率为63%。

气功对新鲜胎肝细胞有明显增强发光的作用。（正常值为165.62±15.22。

发功前为263.80±38.37，发功后为308.42±42.74，$P<0.01$）；对冻存前胎肝细胞悬液发光强度亦有显著增强作用（$P<0.01$）但增强的幅度没有新鲜细胞大。冻存后解冻的胎肝细胞其发光强度在发功后较发功前亦有显著增强（$P<0.01$）。且发功后的发光强度（290.06±47.96）与新鲜细胞发功后的发光强度比较（308.42±42.74）无显著差异（$P>0.05$）。从这一指标看，低温保存是成功的。低温保存液由于不含细胞，故发功前后其发光强度无明显变化。在气功师停止发功后5分钟，新鲜细胞悬液发光强度明显降低。气功师再行发功后，发光计数再次上升，但不及第一次发功后上升幅度大。

以上研究结果提示细胞超微弱发光可作为一项监测生命过程和状态的指标。它具有灵敏、可靠、快速等特点。对于低温生物医学及生命科学各领域的深入研究，都是很有裨益的。

基因工程方法试制荧光素酶

王维光　曹湘玲　顾俭本　白永延

（中国科学院上海植物生理研究所）

一、前言

萤火虫荧光素酶测ATP的生物发光分析技术已得到广泛的应用，因而荧光素酶的需求量日益增加。荧光素酶是从萤火虫发光器官提取的。萤火虫作为制取荧光素酶的原料来源有限，而且由于施用农药化肥和环境污染，萤火虫日益减少，因此，需大量制备荧光素酶有困难。为此我们以基因工程方法试制荧光素酶，用分子克隆技术构建带有萤火虫荧光素酶基因工程菌，利用发酵方法大量培养基因工程菌，从中提取荧光素酶，经柱层析，冷冻干燥得到较纯的荧光素酶。

二、实验结果

1、试剂：

1）荧光素酶液。用50mM Tris PH 7.6，内含10m MgSO，1mM EDTA 的缓冲液。将冷冻干燥的荧光素酶配成560μg 蛋白／ml的酶液。

2）ATP 标准液。用50mM Tris PH 7.6 缓冲液配成5×10^{-11}–5×10^{-8} mole/ml 溶液。

3）荧光素。用50mM Tris PH 7.6 缓冲液配成50μg/ml 的溶液。

2、发光反应测定：

取荧光素酶 50μl（28μg）与200μl 标准 ATP 溶液混合于反应杯中。放入发光光度计内。注射200μl 荧光素溶液（10μg）。记录发光曲线。发光强度与 ATP 浓度呈线性关系。与萤火虫荧光素酶的发光反应特性一致。

萤火虫萤光素的化学合成及其性质

顾俭本　王维光

（中国科学院上海植物生理研究所）

一、前言

萤火虫荧光素酶（简称荧光素酶）发光系统是各类生物发光中研究得最深入，最透彻的一类。也是生物发光分析中应用得最广泛的一种。在国际上，有关生物发光分析试剂都已商品化。而我国有关的试剂很少，只有萤火虫粗荧光素酶（中国科学院上海植物生理所产品）。其它有关试剂尚无报导。萤火虫荧光素（简称荧光素）是荧光素酶发光系统中，必不可少的物质，目前我国所需的荧光素依赖进口。这对荧光素酶的生物发光分析技术的应用和推广有一定的限制。为此，我们化学合成了荧光素，探讨了合成荧光素的有关性质，并与进口产品作了比较。

二、实验结果

1、试剂

荧光素酶：用分子克隆技术构建带有荧光素酶基因的基因工程菌。从中提取荧光素酶，经柱层析得到较纯的荧光素酶，冷冻干燥。用50mM Tris PH 7.6 内含10mM $MgSO_4$ 1mM EDTA 缓冲液配成560μg 蛋白/ml 的酶液。

标准ATP 溶液：用50mM Tris PH 7.6 缓冲液配成5×10^{-8}mole/ml — 5×10^{-14}mole/ml 的溶液。

标准荧光素：用50mM Tris PH 7.6 缓冲液配成50mg/ml 的溶液（sigma）

2、荧光素的合成

综合Seto 和 Bowie 的方法。参照Seto 方法合成2—氰—6—羟基苯并噻唑，参照Bowe 方法，从2—氰—6—羟基苯并噻唑合成荧光素。

3、合成荧光素的性质

1）紫外可见吸收光谱。将合成荧光素和标准荧光素分别用50mM PH 4.8 醋酸钠缓冲液和50mM PH 10.5 碳酸钠缓冲液配成45mM 溶液。在250—450 nm 波长测定吸收光谱。合成和标准荧光素的吸收光谱相见。PH4.8荧光素溶液有两个吸收峰，分别为324nm 和263nm 。PH10.5 荧光素溶液也有两个吸收峰，为382nm 和280nm。

2）荧光光谱。溶液配法同上。两种来源的荧光素的荧光谱相同。PH 4.8 和PH10.5 溶液的荧光发射峰均为520 nm 。

3）纸层析 版Bowe 方法。层析结果两种荧光素都只有一个光斑。Rf 也一样为0.6。

4）发光反应测定。将荧光素酶50μl（28μg）与200μl ATP 标准液（5×10^{-9}mole/ml ）混合于反应杯中，放在发光光度计内，注射200μl 荧光素（10μg），记录发光曲线。两种来源荧光素的发光反应的发光曲线和发光强度基本一致。固定荧光素酶量（28μg ）和合成荧光素量（10μg ）对不同浓度ATP 溶液（10^{-14}—10^{-8}mole/ml 作发光反应，发光强度与ATP 浓度呈线性关系。

三、结束语

我们合成的荧光素，经吸收光谱，荧光光谱，纸层析和发光反应测定，证明与国外产品相同。

用生物发光技术测定卡介苗ATP含量的研究

王维光　顾俭本

（中国科学院上海植物生理研究所）

陈惠兰

（上海结核病防治中心）

目前国内采用世界卫生组织规定的细菌菌落形成单位（*cfu*）法测定卡介苗的活菌数。这种方法存在以下问题。首先计数不够准确，其次周期长，需一个多月才能获得结果。这些因素给卡介苗的质量控制带来很大的困难。1979 年法国巴斯德研究所的 *Gheorghiu* 等，首次用生物发光技术测定了卡介苗的活菌数。1984 年又作了进一步的探讨。测定了不同卡介苗产品的每个活菌的 *ATP* 含量这种方法快速、简便、准确。为此我们开展了这方面的研究。

我们采用氯仿加热处理提取卡介苗 *ATP* 的方法。研究了不用氯仿加量，热提取的时间和菌的浓度对提取卡介苗 *ATP* 的影响。实验证明，卡介苗经 5 %葡萄糖或重蒸水稀释一倍，取 0.1 *ml* 卡介苗菌液，100℃ 加热 10 分钟，提取 *ATP* 的效果最好。根据以上从卡介苗提取 *ATP* 方法，我们测定不同菌量（1—7 *m*g 七个等级）*ATP*，结果表明菌量与 *ATP* 含量呈线性。每个活卡介苗菌的 *ATP* 含量为 1.2—1.4×10^{-15} g，与 1984 年 *Ghcorghiu* 测定结果 1.14—1.22×10^{-15} g 相似。我们认为可用先进的生物发光技术方法替代“*cfu*”法，能快速、简便准确地测定卡介苗的活菌数，有利于卡介苗质量监控和临床应用。

光生物学中光辐射测量的研究

摘 要

在光生物学的很多研究过程中，要确定实验的光照环境经常遇到测量光辐射强弱的问题。现在一般是用测量光照度的方法来衡量光照的强弱，因为光照强度是人眼对光辐射的评价，即光照度所表示的是光辐射对人眼所产生的视觉效应的强弱，它和光辐射对生物体所产生的光生物效应的强弱并不是对应的。如果光源的光谱功率分布不同，即使光照度相同，光辐射对生物体所产生的光效应也有可能相差几倍甚至几十倍。这就使得一些实验结果的重复和比较产生了困难。人们很早就已经意识到这些差异，但由于光生物现象的特殊复杂性光生物学研究中的光辐射测量尚没有一种合理而且统一的方法。本文仅从光测量仪器设计者的角度出发以光合作用为例推荐一种比较合理的测量方法。

实际应用的测光技术一般是测量给定辐射中有多少对被照体（生物体）有效的辐射功率，为此就必须知道以下内容。

（1）光生物效应的光谱光效能函数，即不同波长的辐射产生相同的光生物效应所需要的光谱辐射能量。一般它是波长λ和辐照度 E 的函数 W（λ、E）。

（2）辐射源的光谱功率分布，即辐射源的光谱辐射功率随波长变化的函数 E（λ）。

那么辐射源对生物体所产生的有效光功率 P 为：

$$P=K\cdot A\int_0^\infty W(\lambda, E)\cdot(\lambda)\,d\lambda$$

式中：A 为照射面积，K 为常数

计算 P 的数值一般是很困难的，但如果探测器的光谱响应特征与 W（λ，E）一致，就可以直接测出有效功率 P。一般的光照度测量是用人眼的光谱光视效能函数 V（λ）代替 W（λ，E）。如果将叶绿素的吸收光谱近似认为是光合作用的光谱光效能函数，如图 1 可见人眼的光谱光视效能函数与叶绿素的光谱吸收特

性相差极大。这就是说有时光照度很大而它所能产生的光生物效应却非常小。这使得以光照度为实验条件的结果之间难以进行比较。同时我们也可以看到叶绿素的吸收光谱曲线远比 $V(\lambda)$ 函数复杂。并且叶绿素 a 和 b 的吸收曲线也不相同。要象模拟人眼一样用一个物理探测器来模拟光合作用的光谱光效能曲线是不可能的。

如果我们分别用两个探测器来分段近似模拟叶绿素的两个吸收峰。如图 2 两个探测器的光谱响应峰值分别取叶绿素 a 和 b 的光谱吸收峰值的平均值 450 nm (Tb)、665 nm (Tr)。对于太阳辐射、白炽灯、氙灯等光合作用研究中常用的光源。用两个探测器 Tb 和 Tr 分别测量辐射源在两个波段的辐照度 Eb、Er。用 Eb/Er 可以比较精确地确定光源的光谱功率分布。$Eb+Er$ 则比较精确地表征了光源对光合作用的有效辐射功率。重复精度可以控制在 ±10% 以内、对白炽灯重复精度可以控制在±3 以内。当然我们这里所选用的模拟曲线在很大程度上是正确确定光照环境和设计上容易实现这两方面考虑的。用叶绿素的光谱吸收曲线代替光合作用的光谱光效能曲线是否合理、而合理的模拟曲线应该如何选择。希望光生物学工作者提出意见。我们认为通过增加一次测量能大致准确地确定光照环境、提高一些光合作用实验的重复性和比较的可靠性是非常有意义的。

北京师范大学天文系光电研究室　郑晓东

香烟烟油对粒细胞吞噬功能影响的化学发光研究

张荣泉　邱　琦　勤　艳　吴元德

中国医学科学院基础医学研究所

以Luminol和Lueigenin作为化学发光探针（CLP）。检测了香烟烟油对兔全血吞噬化学发光（CL）的影响。结果发现二者的吞噬CL强度与烟油剂量之间呈现抑制效应。即CL强度随烟油浓度的增加而降低（当烟油浓度为0·26、0·52、2·6mg/ml时。Cl抑制效应的P值分别为＞0·05、＜0·05。＜0·001）。全血吞噬CL主要反映粒细胞作用。为了排除烟油对CL的抑制效应来自于烟油的细胞毒性。用Evans blue exelusion试验检查了粒细胞活力。结果表明在等效条件下。烟油并不产生显著的毒性。提示这种抑制效应只能是与粒细胞吞噬功能的降低相关联。近来已明确LuminoL依赖的吞噬CL主要决定于细胞内MPO－H_2O_2系统；Lueigenin依赖的CL与MPO酶活性无关。只对细胞呼吸爆发中产生的超氧负离子O_2^-特异敏感。

吞噬功能的现代概念包括了杀灭微生物和肿瘤细胞的双重防御作用。因此。由本实验结果可推测吸烟考粒细胞吞噬功能抑制的结果是导致癌变机率的增加。

酪氨酸、色氨酸的发光对蛋白质荧光的贡献

李庆军　唐树延　张新夷

（中国科学院长春物理研究所）

采用 RF—520 荧光分光光度计，我们测试了牛血清白蛋白、胃蛋白酶和水解乳蛋白的激发光谱和发射光谱。同时考虑到在这些蛋白质中发光的贡献主要来自于芳香氨基酸，因而也对苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸进行了测试。氨基酸样品是第二军医大学制备的。蛋白质是上海东风试剂厂制备的。得到的实验结果如下：

样　　品	激发有效最大位置	荧光峰值位置
L—苯丙氨酸	$E^{285\,nm}_{xmax}=269\,nm$	$E_{mmax}=285\,nm$
L—酪氨酸	$E^{305\,nm}_{xmax}=280\,nm$	$E_{mmax}=305\,nm$
L—色氨酸	$E^{355\,nm}_{xmax}=305\,nm$	$E_{mmax}=355\,nm$
牛血清白蛋白	$E^{342\,nm}_{xmax}=288\,nm$	$E_{mmax}=342\,nm$
胃蛋白酶	$E^{349\,nm}_{xmax}=288\,nm$	$E_{mmax}=349\,nm$
水解乳蛋白	$E^{360\,nm}_{xmax}=288\,nm$	$E_{mmax}=360\,nm$

对于芳香氨基酸来说。苯丙氨酸发光极弱。它的克分子消光系统 ε = 190 室温下的荧光量子产量 ∅ₚ = 0。03 都很小。因此苯丙氨酸只有微弱的发光。当他与酪氨酸色氨酸一道发光时。它对蛋白质荧光的贡献往往可以忽略不计。我们在室温下测得酪氨酸的激发光谱最大值位于 280 nm 。荧光最大值位于 305 nm 。室温下荧光量子产额为 0.21 消光系数 ε=1400 。对蛋白质荧光的贡献。酪氨酸比苯丙氨酸要大得多。室温下的色氨酸的激发光谱最大值位于 305 nm 。荧光最大值位于 355 nm。色氨酸的荧光量子产额有一个变化范围。约在 0.11-0.20 之间。同时在室温下色氨酸（及其有关的侧链上吲哚分子）荧光最大波长是依赖于溶剂的 。这种作用很受重视。因为蛋白中色氨酸荧光最大值也有相似变化。由此可用来推导出与氨基酸残基有关的环境极性。

对于几种蛋白质荧光。它们的激发最大值都位于 288 nm 。但荧光最大值却略有不同。按发光性质分。这几种蛋白质都属于 B 类蛋白质（荧光最大值具有色氨酸发光的特点）。但它们的荧光都没有体现出极为显著的 B 类蛋白质荧光的特点。从峰值位置和谱线宽度看。荧光是酪氨酸和色氨酸发光之和。在这里酪氨酸荧光贡献较小。可作如下理解：与色氨酸相比。酪氨酸的荧光量子产额很低。自然对蛋白质的荧光贡献就小。另外在我们的实验中。酪氨酸荧光最大值（305 nm）恰好与色氨酸激发光谱最大值相重合。造成了有利于能量转移的条件。这也是造成 B 类蛋白质中色氨酸发光占主要成分的原因。

化学发光测定技术
在粉尘毒性研究中的应用初探

（论文摘要）

上海市劳动卫生职业病防治研究所

沈本权　姜　馨

化学发光是自然界中存在的一种普遍现象。化学发光测定技术具有灵敏度高、特异性强、稳定性好、测定简便等优点。为探讨化学发光测定技术在粉尘毒性研究中的应用前景。本文观察了不同毒性程度的粉尘对豚鼠肺泡原巨噬细胞的作用及其剂量反应关系。

以健康豚鼠作实验动物。采用常规肺泡灌洗方法收集肺巨噬细胞（MCP）。主要试剂有 LUminoL（sigama 公司产品）。石英粉尘（北京卫生研究所提供）。绢云母（自磨）、铁尘（上海大场场南化工厂产品）。测试仪器为 SHg－1 型生物化学发光测定仪（上海计量局实验工厂）。整个测定过程由 APPle－Ⅱ计算机控制。测量温度为25℃。每次样品测定的积分时间为6秒。

实验结果表明正常 MCP（未加粉尘）的化学发光水平随 MCP 数增加而增加。在低浓度时（1×10^5）。化学发光峰值在加 ZYmason 后22 分钟时出现；中等浓度（2×10^6）时。峰值在25分钟左右时出现。高浓度（5×10^6）时化学发光峰值则在35分钟左右时出现。在 MCP 中加入石英粉尘后。化学发光即刻升高。大约在20分钟时。化学发光达到高峰。峰值显著高于正常 MCP。且随石英粉尘剂量增加。化学发光峰值相应增加。同时 MCP 存活率与化学发光峰值也有较好的一致关系。

对石英、绢云母、铁尘等三种工业粉尘的比较结果为石英引起 MCP 的化学发光变化高于绢云母。绢云母高于铁尘。绢云母引起的化学发光变化峰值较石英提前出现。同时计数的细胞存活率变化情况也与此相符。

为了确定粉尘作用于 MCP 后是何种自由基引起化学发光的变化。作者还分别测定了在石英作用于 MCP 后。加入超氧化物歧化酶（SOD）。过氧化

氢酶。过氧化物酶对化学发光的影响情况。观察到在加入 SOD 后。化学发光迅速被抑制。随 SOD 加入量加大。抑制程度也加大。过氧化氢酶组化学发光稍有下降。很快又上升；而过氧化物酶组及对照组（加生理盐水）的化学发光不受影响。依然上升。这一结果提示石英粉尘作用于 MCP 后可能是引起超氧阴离子的改变为主。SOD 是一种特异性极强的酶。只催化下列反应。

$$2O_2^{-} + 2H^{+} \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

据本实验结果认为。化学发光测定技术对于鉴定粉尘毒性、研究粉尘毒作用机理以及粉尘毒性抑制的初筛等几方面的研究都具有一定价值。值得进一步深入探讨。

用单片机控制的ZDS—4型生物发光光度计

浙江大学生命科学研究室

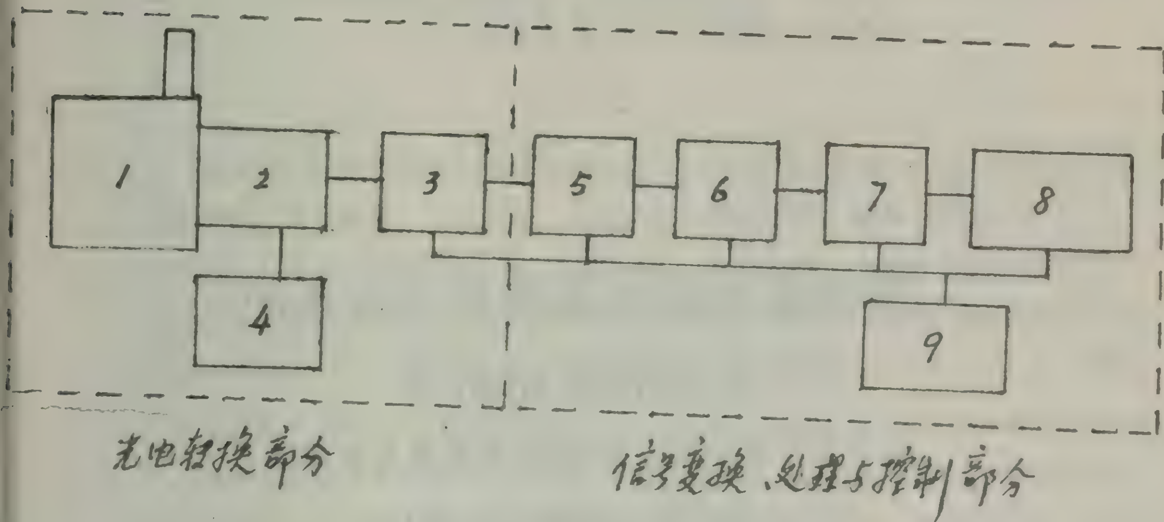
叶建华　孙炳荣　孙　琦

（摘　要）

我们于一九八六年研制了 ZDS —3 型用单板机控制的发光光度计。可用于测量微弱的生物发光或化学发光。为了进一步提高可靠性。降低成本和小型化。我们又试制了用单片机控制的 ZDS —4 型生物发光光度计。本文介绍该机的原理与结构及它的主要技术指标。

ZDS—4 型生物发光光度计主要由光电转换电路。信号变换、处理与控制

电路两部分组成。图一便是它的结构框图。光电转换电路由加样装置、光电倍增管、I/V变换器及高压电源组成。发光样品所产生的光子为光电倍增管所接收。并变换成相应的光电流。再经I/V变换器变换成放大了的电压信号。信号变换、处理与控制电路由A/D 。接口电路。MCS—48单片机和电源组成。其核心是MCS—48单片机。根据生物发光分析的特点。ZDS—4型生物发光光度计采用积



图一.ZDS-4型生物发光光度计结构框图

1.加样装置 2.光电倍增管 3.I/V变换器 4.高压电源 5.放大器

6.A/D变换 7.接口逻辑 8.单片机 9.低压电源

满足各种不同应用场合的需要。对频率信号的采样我们是用中断方式实现的。将VFC的输出接至MCS—48单片机的INT脚。每来一个脉冲产生一次中断。而中断服务程序完成脉冲加一功能。这样便实现了脉冲计数。单片机的主程序分成参数设置、测本底和测样品三部分。初始化后。根据T0、T键的不同组合设置

好相应的积分时间。尔后进入测试状态。根据面板上开关 S 的状态。确定是测本底还是测样品。是测本底则不断地对本底值进行采样。显示与存贮。并随时间而不断刷新。若开关 S 处于测样品状态。则进入测样品程序。由触发信号起动对样品采样。采样值扣除本底进行显示和打印。

ZD S-4型生物发光光度计可测 10^{-16} molc ATP。重现性优于5 %。线性范围大于四个数量级。采用单片机控制后。使该仪器部分智能化。而且与过去用单板机控制的同类产品相比。它的体积更小。成本更低。可靠性更高。

发光蚯蚓萤光素酶发光体系的性质和应用研究

吴自荣　古小文　张盛强（华东师大生物系）

惠永照（无锡新安中学）

摘　要

本文首次报道了从我国发现的发光蚯蚓体液中提取的萤光素酶粗提取物。在体外组成蚯蚓萤光素酶发光体系。在发光蚯蚓的粗提取物中存在着萤光酶和萤光素。外加 H_2O_2 能启动发射出可见的兰绿色的光。用由光电倍增管制成的测光仪测定发光强度的变化。利用这一发光体系测试了各种无机离子如 Fe^{+2}、Fe^{+3}、Mg^{+2}、Na^{+}、Ca^{+2}、Cd^{+2}、M^{+n} 以及各种有机物。如酵母膏、小牛血清白蛋白、葡萄糖、蔗糖等对该发光体系发光的影响；测试了过氧化氢酶和超氧化物歧化酶对发光的影响；初步探讨了蚯蚓发光体系的发光机制。由于蚯蚓发光体系发光对 H_2O_2 极其敏感。因此。利用这一发光体系可测出极微量的 H_2O_2 等过氧化物。

中华黄萤萤火虫荧光素酶的纯化和基本性质

王 英 陈克明 扬志铭

（第二军医大学生物化学教研室 上海）

施建平

（中科院生物化学研究所 上海）

蛍火虫荧光素酶是生物发光中研究得最深入的一种。萤火虫发光系统是一种灵敏度高、专一性强、测定快速、应用广泛的检测工具。国外已纯化了北美 *P pyralis* 萤火虫荧光素酶。并在生物化学。临床医学、免疫学等不同学科中广泛应用。到82年为止。有关文献已超过一千篇。我国从80年代初用虫荧光素酶粗酶制剂进行了一些工作。但由于粗酶中含有腺苷酸激酶（AK）、核苷二磷酸激酶（NDPK）。可催化产生 ATP 的反应。影响检测 ATP 的灵敏度和准确性。也限制了该发光系统的应用范围。到目前为止。国内还未见纯化虫荧光素酶的报道。由于不同的萤光虫的荧光素酶纯化和性质并不相同。因而。纯化中国常见萤火虫荧光素酶并研究其性质不但在应用上可以克服粗酶的缺点。在理论上可以比较不同种属的虫荧光素酶的特性。基于这个目的。在总结前人工作的基础上。结合自己工作中的经验。我们用 DEAE — Sephadex 离子交换柱层析和兰色琼脂糖亲和层析纯化了新鉴定的萤火虫中华黄萤（*Lucoila chincsis L*）虫萤光素酶。去除了 NDPK 、AK 和焦磷酸酶等杂酶。回收率20。7%。纯化倍数为16。2。经 SDS — PAGE 为一条带。亚基分子量63。000。经 FPLC 测得全酶分子量为120。000 表明该酶由二个亚基组成。在甘氨酰甘氨酸缓冲液中最适 pH 为7.4。而在磷酸缓冲液中为6。8。在 pH 为7。6—7。8的缓冲液中发光到达高峰约需0。2—0。4秒。缓冲液偏酸时所需的时间愈长。硫酸镁、氯化镁和醋酸镁对发光的影响的比较研究表明。醋酸镁对发光的影响最小。Mg^{2+}/ATP 对酶活力的影响表明。Mg^{2+}/ATP 才是荧光素酶的真正底物。同时。

发光系统还需要有一定浓度的镁离子。甘油对荧光素酶不仅有稳定作用。而且有激活作用。反应系统中加入DTT时。发光强度增强。说明该酶活性与巯基有关。当荧光素为不同的给定浓度时。ATP浓度变化引起发光强度变化的结果表明。萤光素酶能增强ATP与酶的结合。在荧光素饱和的情况下。Mg^{2+}—ATP的Km值为1.9×10^{-4}M 此酶系统发光光谱峰值的波长为560nm。在PH偏酸时。无红移现象。上述性质与北美P pyralis有很多不同。说明了种属差异是明显存在的。

利用发光细菌测定人的白细胞的吞噬作用

朱文杰　汪　杰　阿依古丽

华东师范大学生物学系

人血液中白细胞的吞噬能力反映了人体免疫功能的水平。在临床上有重要意义。近年来报道用化学发光法可以测定白细胞的吞噬功能。国内已有报道。用发光细菌的发光作指标。测定白细胞的吞噬功能。国内尚无报道。本文报道用发光细菌的一个种（vibrio spp）测定白细胞的吞噬能力。主要过程为：将发光细菌64号菌株从斜面接入液体培养基。振摇培养到对数中期。离心收集菌体。再用PH9的磷酸缓冲液洗涤一次。然后加入少量PH9的缓冲液使呈厚浆状。保存于4℃冰箱中。临用时以含0.2%的葡萄糖的PH7.3的磷酸缓冲液稀释至适当浓度作试验。然后用人血清（或豚鼠血清）调理30分钟。加入适当浓度的白细胞。每次间隔一定时间测定细胞悬液的发光强度。由发光强度的下降可显示吞噬作用的强弱。对照不加白细胞。仅加同量的生理盐水。结果。在60分钟内对照的发光强度基本不变。而加入白细胞样品则发光强度逐步下降。并随时间的

延长而下降更多。显然。发光细菌悬液在合适条件中能发光相当的时间而强度不减。一旦与白细胞接触。被吞噬。则丧失发光能力。从而细菌悬液发光水平下降。发光细菌被吞噬越多。则发光强度下降越多。对各个样品中发光细菌作了活菌计数。发现其存活率与相对发光强度呈现良好的相关关系。说明发光强度的下降确系发光细菌被白细胞吞噬死亡所致。

本文还研究了某些因素对本方法测定结果的影响。包括温度。白细胞与发光细菌的数量比例。发光细菌的数量比例。发光细菌的保藏条件和时间等多种因素对结果的影响。

本方法比较简便易行。且所得结果是白细胞对发光细菌的吞噬的结果。直接反映了白细胞的吞噬外来细菌的能力。更符合于自然状态中的白细胞的功能的表现。

化学发光法测量
某些合成药和中药的清除O_2^-作用

华东师范大学　胡天喜　陈季武

上海医科大学　黄振东　李承珠

黄嘌呤氧化酶可催化黄嘌呤或次黄嘌呤发生氧化反应生成尿酸。并生成超氧化阴离子（O_2^-）自由基。O_2^-进一步与化学发光剂鲁米诺（3—氨基邻苯二甲酰肼）反应。使后者激发。激发态的鲁米诺返回基态时产生化学发光。凡是能抑制黄嘌呤氧化酶活性或能清除O_2^-的药物。都可以降低本化学发光体系的发光强度。本体系已被广泛地用来测定超氧化物歧化酶的活性。

已有报道表明。咖啡酸和芥子酸能有效地清除电离辐射线所诱发的自由基。减

少血小板的降低，预防出血并止血，提高辐照动物的存活率，也有报道提及心血管在缺血再灌流的过程中会产生自由基，而丹参等中药具有清除自由基、减少氧损伤的作用。本研究试图利用黄嘌呤——黄嘌呤氧化酶——鲁米诺发光体系来测定上述两类药物的抗氧化、清除 O_2^- 的效用。试验表明：

1、有氧的条件下，黄嘌呤——黄嘌呤氧化酶——鲁米诺发光体系的发光，是个瞬态的过程，启动发光后几秒钟内就出现发光高峰，随后渐渐下降。一般都选用峰高作为指标。

2、羟基肉桂酸衍生物中的咖啡酸、芥子酸等，一些中药的提取物，例如丹参酮Ⅱ$_A$磺酸盐、红藤等都有类似于超氧化物歧化酶（SOD）那样的效应，清除 O_2^- 降低发光强度。若以药物的浓度为横座标，抑制发光强度的百分数为纵座标，可以绘出一条曲线。设对应于抑制发光强度50%的浓度为IC50，那么，各药物的IC50并不一致。其药效顺序为：咖啡酸胺盐（0.32ug/ml）>芥子酸胺盐（0.37ug/ml）红藤多糖（0.75ug/ml）>丹参酮Ⅱ$_A$磺酸盐（1.90ug/ml）>当归水提液（62.5ug/ml）>黄芪水提液（130.0ug/ml）>8401(3，4，5——三甲基丙烯酸乙二胺盐)（290ug/ml）。本文对各种药物清除 O_2^- 的机理和效价差异的原因也作了讨论。

化学发光法测量自由基反应和药物抑制自由基反应和能量转移的过程具有灵敏、快速、简便、价廉、能测定反应的早期动力学的优点。可以作为顺磁共振法（ESR）的辅助手段。本体系对于筛选抗自由基药物，在医学上研究抗衰老、防肿瘤、防治放射病、食品、油脂、橡胶、塑料工业上的抗氧化有一定的应用价值。

化学发光法检测照射大鼠细胞吞噬活性

周锦锋　程文英　王建平

（上海医科大学放射医学研究所）

胡天喜

（华东师范大学生物系）

电离辐射对免疫系统细胞成分的影响是辐射免疫效应的一个重要部分。不同的细胞对照射敏感性相差甚远。有些还尚有争议。Holler 等发现整体照射后粒性白细胞吞噬活性下降。Anderson 等对粒性白细胞体外照射没有观察到吞噬相伴随时代的改变。Edvestadt 等报道照后粒性白细胞活性增加。对于肺泡巨噬细胞国内外还研究得不多。仅见 Sad—lonnier 报告。7.5Gy 整体照射后。第一天吞噬能力下降。以后上升。35天时上升到对照组水平。以往检查细胞的吞噬功能。如显微镜的形态学观察等。都比较费时。难于定量而且会出现假阳性。化学发光法是近年来发展起来的一种新的检测方法。它可测定细胞吞噬过程中产生的自由基。从而直接反映细胞的吞噬活性。为此本文用化学发光法检测了照射大鼠粒性白细胞和肺泡巨噬细胞功能的变化。在放射损伤领域。国内尚未有类似报道。

实验动物用雄性 wistar 大鼠。体重 180—250g。60C—γ 线分别照射 100、200、400、800 R。剂量率为 143 伦/分。照后 6、9、24、48小时处死大鼠。取血 100μl。肝素抗凝。用气管肺灌洗法制得肺泡巨噬细胞。加酵母聚糖和鲁米诺。经 shg 一生物化学发光仪测其发光值。同时作白细胞计数。涂片。分类和肺泡巨噬细胞计数。

实验结果。正常对照组肺泡巨噬细胞测试发现。发光强度与细胞、鲁米诺和酵母聚糖浓度有很好相关性。其中以细胞 2×10^{6} 个/ml，鲁米诺 2×10^{-4} M，酵母聚糖 1×10^{8} 个/ml 为最佳实验条件。大鼠整体照射后。血中粒性白细胞的数量随照射剂量的增加而下降。其中以照后48小时变化最为明显。800 R时仅为对照值的 8%。全血的化学发光值。照后6小时。随剂量增加而上升。照后24、48小时。随剂量增加而下降。其中以48小时变化最为明显。仅是对照值的 24%。

每1000个细胞的发光。粒性白细胞和肺泡巨噬细胞都随剂量上升而上升。相同的剂量。不同时间两者有不同的变化趋势。800R时。照后6。24、48小时。前者分别为对照值的215%。308%。372%。后者分别为对照值的1002%。718%。154%。

上述结果提示。辐照引起血中粒性白细胞数的下降。单个粒性白细胞和肺泡巨噬活力的提高。并且增加照射剂量。变化增大。延长照射后的时间。前者变化明显。后者则相反。细胞的化学发光可反映辐射对机体的早期损伤。

发光免疫的研究：微机程控自动检测

1、针灸对机体NK细胞的免疫功能调节

上海中医学院　陆元桴　杨蕊英　陈汉平

上海市针灸经络研究所　邵伟文　王瑞珍

上海市气功研究所　王正昌　黄　健

NK细胞即自然杀伤细胞（Nature kill cells）是一种毋需事先致敏。也无需依赖抗体就能杀伤某些肿瘤细胞和病毒感染细胞。

目前国内外测定NK细胞活性大都采用51Cr释放试验。此法敏感性高。操作简便。时间短等优点。由于目前国内51Cr试剂比活性较低。需用进口试剂、成本较昂贵。有人用125 IUdR（5一碘脱氧尿嘧啶核苷 IUdR。氚标TDR法。磷酸氧化酶法等。前者同位素放射法较敏感。但操作不安全。影响操作者健康、污染环境等。酶法需用病人血液较多。。不够敏感等。

我们应用发光免疫法。具有操作安全、简便、敏感性较高。不污染环境。为当代最理想。先进的一种测试细胞免疫方法。

材料和方法

一、材料

（一）正常人外周血淋巴细胞制备选择正常人及献血健康者血液３４例。年令２１—５８之间。各取静脉血３ｍｌ。肝毒抗凝。（每50u/ml）。血液用Hahks液双倍稀释。用聚蔗糖一清影葡胺淋巴细胞分离液（比重1·077±0·20）分离淋巴细胞。用ＲＰＭＬ—１６４０培养液按所需浓度配制成细胞悬液。

（二）靶细胞：K562细胞。该细胞株对人和家兔ＮＫ细胞敏感性高。应用前一天用含有１５%胎牛血清的ＲＰＭＬ—１６４０液换液及计数。

以上两种细胞经台酚兰法检测。存活率平均＞９５%。

（三）培养液：RPML—1640培养液内含2×10^{-2}MHEPES。5×10^{5}M2基乙醇。2mM谷氨酰胺和常规青、链霉素。１５%胎牛血清。

（四）虫荧光素酶：上海植物生理研究所产品。係粗制酶。

（五）生物化学发光检测仪：上海计量局实验工厂产品。微机程控自动检测。

二、方法

（一）淋巴细胞2×10^{6}/ml悬液。每管加０·１ｍｌ。加０·1mlRPML—1640营养液0·1ml。为效应细胞实验管。做3管。

（二）靶细胞：K562株。每管加2×10^{5}/ml光液细胞０·１ｍｌ。再加０·１ｍｌＭＰＭＬ—１６４０营养液０·１ｍｌ。共3管。

（三）细胞毒试验：效应细胞０·１ｍｌ。加0·1ml靶细胞。3管。

以上各管充分摇匀。置３７℃。CO_2孵化箱温育４—１８小时。

（四）每管加０·１ｍｌTris液。加塞。在１００℃沸水中加温１０分钟。待冷、离心。

（五）发光免疫测试。取标本0·2ml。自动加虫荧光素酶。测发光脉冲数CPM。按标本ATP浓度曲线。经统计回归处理。自动打印出NK细胞免疫活性结果。以上操作程序全部由电脑及微及磁盘软件控制。自动检测。打印。

实验结果

一、正常人NK细胞活性检测结果

NK细胞活性：45±17·4%

二、正常家兔NK细胞免疫活性：（28例）

NK细胞免疫活性：40±12。6%。

三、针刺虚证病人（辩证施例：有甲状机能亢进。脑血管意外症。神经衰弱。慢支哮喘痹症等病例共48例。NR细腿免疫活性38±14·8%。辩证施治症：44±16·4%。

四、艾灸家兔：三阴交穴。隔日一次。每次五壮。共艾灸15次为一疗程。用抗克淋巴细胞血清。制造免疫功能底下。再施灸。家兔NK细胞免疫活性。正常值：40±12·6。免疫功能底下时NK细胞免疫活性：28·6±14·6%。艾灸三阴交穴后。NK细胞免疫活性为：36·4±15·8%。

讨　论

一、NK细胞它可以杀伤肿瘤靶细胞、病毒、细菌等。它不同于吞噬细胞的吞噬性杀伤瘤细胞。NK细胞攻击靶细胞后。导致靶细胞死亡。而死亡细胞是无ATP（三磷酸腺苷）存在。它只有活的细胞内会存在。它是机体重要生理、生化、免疫等代谢的产物。积极参与能量代谢。糖代谢、脂代谢。旦白质合成。核酸代谢等途径。

NK细胞在溶解靶细胞时。最初有敏感受体。使两者接触。后有溶菌酶等参与。机体干扰素。淋巴因子等。白细胞个素1、11、111等均可激活NK细胞免疫活性。

在细胞毒攻击时。靶细胞产生超氧阴离子（自由素）C_2和H_2O_2等活性率。它们可用鲁米诺（ImmUno 1）检测。

二、近年来。知道自由基与机体抗衰老密切相关。在NR细胞中有自由基。超氧阴离子等存在。可以杀伤异体非已细胞。故NK细胞是人体免疫功能第一道最重要防疫线。

三、NK细胞与抗肿瘤有密切关系。在适当效靶比例实验中。观察到NK活性。可接近90%以上。我们曾用同样病人淋巴细胞。共8份与氚一Tdk法比较。在肺癌病人。接近死亡前。NK细胞免疫活性均为趋近零。证明肿瘤病人NK活性不

但低于正常人。且在病危期是急剧下降。发光免疫与氚标法基本上测试数值是较接近的。

四、针刺和艾灸病人。对虚证病人。免疫功能低下者NK细胞免疫活性均有较明显提高。经统计学处理：针刺术P＜0·01。艾灸术P＜0·05。研究提示针灸对病人机件NK细胞免疫活性确实有一定的调节功能。

一种新的测定NK细胞活性方法
—生物发光法

上海中医学院 杨蕊英 陆元桴 程国强
气功研究所 王震昌 黄 健

利用ATP生物发光技术是最新生物医学工程技术。现已广泛应用于植物与农业等方面。本文应用这一技术于细胞免疫学上。利用ATP生物发光法测定NK细胞活性是一次创新。一般测定NK细胞活性常用同位素方法。它受一定的设备。条件等限制。且对人体有一定损伤。本方法则安全、简便、灵敏。所需试剂和仪器均为国产。

应用荧光素酶测ATP的方法简介：〔1〕早在1952年strcler和Totter应用虫荧光素酶系统测定了ATP。由于ATP在生物体内是一个重要的代谢物。它与生物的生命活动至关重要。它在能量的贮存、输送和释放的过程中有着极重要的地位。ATP均匀地分布于细菌原生质中。容易提取。而且转换率快。在死细胞中迅速消失。测量ATP是研究生命活动过程的重要实验技术。利用荧光素酶测ATP。其特点是简便、快速、灵敏、专一性强。应用此技术测定NK细胞

活性是一个新的尝试。经一年多反复实验。证实它是一个简便可行的方法。

ATP标准浓度测定

1、配制荧光素酶液

称取3mg荧光素酶（中科院植生所生产）溶于1m 150mM甘氨酸缓冲 PH 7·8。内含1mMEDTA。10mMMgSO4和1mg牛血清蛋白。

2、测定仪器

中科院上海植生所生产的发光光度计

3、ATP测定

取0·2ml提取液于0·5cm光经的比色杯。放入仪器反应暗室。注射0·8ml荧光素酶液。同时记录发光曲线。以发光峰高为发光强度。将测得的发光强度对照标准曲线。查出相应ATP浓度。

4、标准曲线的绘制

取纯化的ATP用20mMTris PH7·8缓冲液配成5×10^{-14}moles/ml-5×10^{-9}moles/ml浓度的溶液。每一浓度溶液取0·2ml测定发光强度。以发光强度的对数值为纵座标。ATP浓度为横座标作图。即标准曲线。

按本方法测定正常献血员24例。NK活性平均值为50·5%(±19·27)。测定慢支、肿瘤等病人12例。平均值为43·66%。

样本的测定方法

取静脉血2ml。分离得淋巴细胞。计数。靶细胞K562取新鲜培养24—48计数。效应细胞和靶细胞比例为5:1-10:1。置37℃温箱2—3小时。用热提取法提取ATP。即将样品快速置于沸的缓冲液中。100℃水浴保温10分钟。取出冷却。以上清液作测定。方法同前。

按下列公式计算：

$$\text{NK活性} = \left(1 - \frac{A - B}{C}\right) \times 100\%$$

A＝K562和淋巴细胞混合培养的ATP浓度

B＝单一淋巴细胞培养系统的ATP浓度

C＝单一K562培养系统的ATP浓度

讨论：

用荧光素酶（粗制品）测定 ATP 是一种灵敏度很高的方法。荧光素酶作用于荧光素需要有 ATP 和镁离子存在时产生光。按下列反应进行：

$$E + LH_2 + ATP \xrightarrow{mg^{+}} E \cdot LH_2 \cdot AMP + PP$$

$$E \cdot LH_2 \cdot AMP + O_2 \longrightarrow \text{氧化荧光素} + CO_2 + AMP + \text{光}$$

E = 荧光素酶

LH_2 =荧光素

P = 无机磷

发光强度与 ATP 的浓度成一定数量关系。

应用粗制的荧光素酶测 ATP 的生物发光技术于细胞免疫学上用于 NK 活性的测定在国内还未见报道。根据日本[2]的报道。我们按本实验室的条件加以改进。

1、关于效应细胞（淋巴细胞）和 K562（靶细胞）比例：在5：1—10：1 较为适宜。

2、ATP 提取法。主要是尽快杀死细胞中各种酶。防止核苷酸转化酶的作用。并破坏细胞的结构有利 ATP 的提取。一般提取法有酸提取。热提取和有机溶剂提取法。从本实验中结果。以热提取法为最好。简便可行。

3、本实验测定 24例正常人 NK 活性为50.5%（±19.27）。与王球达等[3]以 125 IUDR 标记法测定 NK 活性正常值50.12%（±8.94）（男）。两者结果相近似。还测定了慢支、肿瘤等病人 12例。平均值为 43.66%。我们初步认为。应用生物发光法研究 NK 活性。可应用于临床诊断。科学研究等。有一定的应用价值。

参考文献：

1、王维光等　　内部资料

2、宫　修一等　　医学のあゆみ　昭和58年 9月

3、王球达等　　上海免疫学杂志　　2（3）：10．1982

时间分辨荧光光谱技术在光生物学研究中的应用

李湘正　冯　扬　陈秀苇　郭　础

（北京理工大学应用物理系）

在简要简介绍时间分辨率为毫微秒数量级的时间相关单光子计数技术测量荧光衰变、荧光去偏振动力学过程的方法原理基础上，以激发能在有机分子间的传递、给体——受体分子内的电子转移、电荷转移复合物生成动力学、及模型生物大分子的各向异性衰变动力学研究为例，讨论该技术在光生物学的应用潜力。

时间分辨荧光测量的数据处理

李湘正　张志广　郭　础

（北京理工大学应用物理系　北京）

有机分子的光物理、光生物学特性的时间分辨光谱测量结果，通常表现为在特定波长处的荧光强度（包括特定偏振）随时间变化的荧光衰变动力学曲线。为从实验的直接测量结果中获取有关分子动态行为、构型构象变化的信息，建立相应的数学模型，并以此为基础进行“卷积”、“解卷积”和拟合处理是必要的。关于简单的单分子、双分子过程的荧光衰变测量结果的数据处理已有较多的研究，而且在方法上也日臻完善。本文报导一种考虑分子间相对取向对双分子过程动力学特性影响的物理模型，并简要介绍数据拟合方法。

生物系统超微弱发光的机制及功能探索

熊建文

广州华南师大物理系

生物系统的超弱发光，这个课题实际上从本世纪２０年代就有人开始了，近年来又成为一个较为“热门”的课题。

然对该现象的机制却一直莫衷一是，其功能几乎不见报道，本文欲对上面 问题及利用生物超微弱发光进行病理诊断方面作些讨论。

一、超微弱发光机制

笔者以为这实际上生物体内一种固有的 干电磁辐射。

比如细胞，实际上就是一种小小的生物激光器，从那里可辐射出相干的电磁波来。

理由是：生物体内已具备了激光器的基本条件：

①工作物质——生物体内的ＡＴ Ｐ（三磷酸腺苷 ）分子便可以是一种，其泵浦能可以是新陈代谢中的生化能。这泵浦能使ＡＴＰ产生能级反转。

②谐振腔——激光器中园球谐振腔也是存在的。也就是细胞膜成为谐振腔是可能的。

实际上，生物体内的Ｑ值一般达10^{18}，谐振腔也就可要求不象真正的实验中的激光器之谐振腔那么高。

二、超微弱发光的功能

作为生物体的一个因有机能，超微弱发光的功能是什么？

笔者以为，这实际上是机体内传递信息的一种形式。一般只认为生物体内（如细胞间）仅是通过化学信号，电信号来传递的。

为何不能认为电磁波也是生物体内的一种信息传递形式呢？

实际上，最早的超弱发光实验（由苏联Ｇｕｒ—Ｗｉｔｓｃ 完成１９２３年）显示出的结果便证明了这个假想是合理的，中医的经络学说也支持了这个观点。

三、超弱发光在医学诊断上的应用＊＊

尽管超微弱发光问题的机制，功能方面尚需探讨。然大面积进行些实验也无

疑是必需的。

笔者已开始在微弱发光应用上做工作，利用血清的超微弱发光来诊断疾病。特别癌症等一类疾病的早期诊断。因为，癌症实际上就是一种细胞的无节制恶性生长，这样细胞间超微弱发光现象一定会有所变化，这样通过测出光子数的异常值便可定量地分析出癌症，炎症等。

这是一项很有价值的工作。

**该项目是广东省科学基金项目。

光生物学中的微弱光信号检测技术

苏州大学生物物理与医学工程研究室

张士勇　黄孟才　杭文敏　沈雷洪

一、引言

微弱信号检测是利用电子学、物理学和信息论方法，对被噪声污染的信号进行有效恢复和测量的一门新兴电子技术科学。随着光生物学研究的发展和深入，常规的检测技术已愈来愈不能满足需要，对微弱光进行有效检测具有重要意义。

信号“微弱”的含义通常是指该信号的强度和伴随在信号中的噪声强度相比而“微弱”，因而微弱信号检测的关键在于研究信号和伴随的噪声在规律和特征方面的差异，然后采取有效的措施来剔除噪声。

噪声定义为影响测量的有害扰动。文献〔3〕中有对噪声的特征和规律的详尽描述，本文不再赘述。根据不同信号和被抑制噪声的规律特征而采取不同的技术措施便构成了微弱光检测不同的几个方面。信号噪声比是微弱信号检测中常用的一个重要指标。

二、微弱光检测的原理

1、相关检测

对于白噪声，传统的滤波技术可将滤波器带宽之外的噪声剔除，但由于带通滤波器（BPF）的通带很难窄化（通带Q值仅为10^{1-2}），噪声抑制能力一般较弱。

相关检测技术采用了自相关或互相关原理，在功能上类似于频域滤波，可实现Q值达10^{8}以上的等效窄带且能不随中心频率的移动而变化。

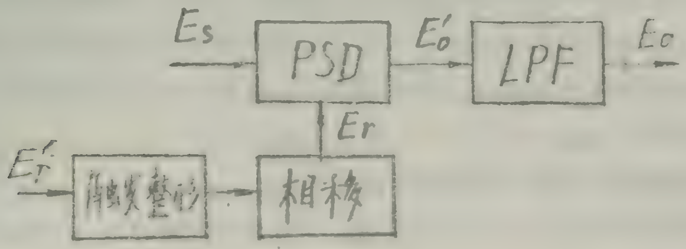


图1. 相关检测原理示意图

如图1所示，设

$E_s = A_s \mathrm{Cos} W_s t$

$E_r = A_r \mathrm{Cos}(W_r t + \psi)$

则 $E_0' = E_s \cdot E_r = \frac{1}{2} A_s A_r \mathrm{Cos}[(W_s - W_r)t - \psi] + \frac{1}{2} A_s A_r \mathrm{Cos}[(W_s + W_r)t - \psi]$

通常使$W_r = W_s$，并使$A_r = 1$，通过低通滤波器（LPF）后，信号输出便为

$$E_o = \frac{1}{2} A_s \mathrm{Cos}\,\psi$$

设想频率为W_n的噪声和被测信号一起进入PSD，如果 $W_n - W_r$ 大于LPF的截止频率W_p，它将被滤除；由于W_p取决于LPF的积分时间常数τ_c，在不违背香农第一定律的前提下采用较大的τ_c可获得一般BPF无法实现的$\triangle W_p$值。另一方面，调整相位延迟后可使E_s与E_r间相位同步（$\psi = 0$）而得最大信号输出，而对噪声来说，即使其频率与W_r相等，但其随机变动的相角ψ_n将导致$\mathrm{Cos}\,\psi_n$的波动，如果τ_c选得足够大，此部分同频干扰亦将得到抑制。

相关检测是以损失一部分频率域信息为代价的。

相关检测技术已在能够对生物样品进行层析测量的光声光谱技术中得到了应用。

2、累加平均

其基本依据是多次测量的$\sqrt{m}$准则。即对所重复信号在某一测量点上多次测量$\sqrt{m}$次，累加的结果使信号的幅度增加到原来的$\sqrt{m}$倍。即$S(t) = m\,s(t)$，而对随机噪声，依据统计学的规律，累加后的幅度仅为原来的$\sqrt{m}$倍，即$N(t) = m\,S(t)$，这样便有

$$\frac{S(t)}{N(t)} = \frac{m\,s(t)}{\sqrt{m}\,n(t)} = \sqrt{m}\,\frac{S(t)}{n(t)},$$

即信噪比改善了 m倍。

累加平均的方法是以牺牲一定的时间为代价的。

累加平均技术可有效地用于光致生物效应中强光激发的“闪光光能法”和“动力学光谱法”测量。

3、单光子计数

光微弱到一定程度后便表现为对探测器的单光子入射。此时选用合适的光电转换器将单个光子转换为对应的电脉冲信号，然后再进行计数便可实现单光子计数。此中的噪声是非光子激励的电脉冲，例如将被测光完全切断，在全暗的环境中系统仍将有一定的脉冲计数（称为暗计数）。为此需选择单光电子响应峰（S E R）明显的光电倍增管，并进行脉高甄别。其原理如图 2所示。

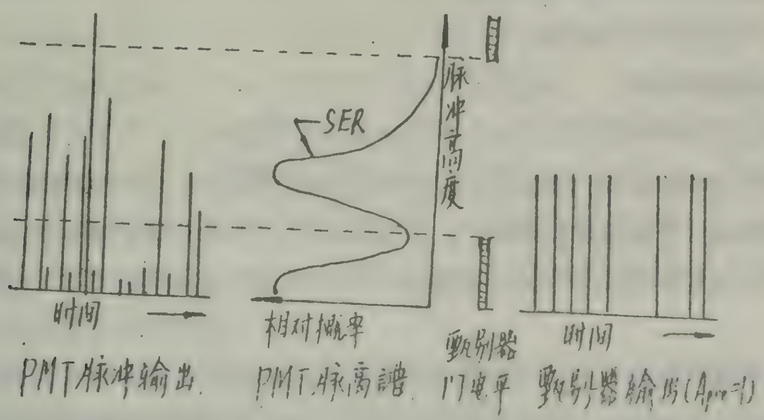


图2. 单光子計数的脉高甄别

另外，在实际测量时还可进行背景扣除。

较高的灵敏度和较宽的动态范围，使单光子计数技术在D N A 发光测量、萤光酶作用下的微生物发光等生物光测量及光合作用的原初过程测量（采用时间相关单光子计数法）中都得到了应用。

4、光多通道分析

传统的光并行检测方法是拍摄照片，该方法不仅速度慢、动态范围少，而且检测灵敏度也较低，比较难以适应检测微弱光的要求。近年来发展起来的光多通道分析（O M A）系统是现代光电技术和计算机技术相结合的产物。它不仅有效地克服了传统方法的不足，还可进行多谱线同时分析同时测定样品中的多种微量元素和快速时间分辨光谱等传统方法无法实现的测量。如将O M A的 N个通道同时接受一个光信号，则可信噪比改善（S H I R）提高 N或$\sqrt{N}$倍（视不同的光照度而异），这为减少测量时间提供了途径。由于采用了微型计算机，一个 N通道的 OMA 系统就可相当于N个单通道的信号平均器或一个 N 通道的信号平均器。在某些 O M A系统中还可将探测器的部分（或一半）通道关闭，使其保持黑暗，而仅让另一部分接受曝光，这样读数据时通过一定的程序便可实现背景噪声的直

接扣除。采取阶梯光栅等措施后，OMA可用于具有ps时间分辨率的光生物作用时单一脉冲激发过程的光谱分析。

5、自适应处理

在被测信号的噪声源上单独采集一路噪声信号，通过自适应滤波器，使其接近于被测信号中的噪声分量，再将被污染信号与滤波器输出相减 使噪声部分相互抵消，从而使信噪比得到改善。

三、技术的实现与仪器

1、光电转换器

微弱光检测中最常用的光电转换器是光电倍增源（PMT）PMT中热电子发射、光子与离子反馈、场致发射、宇宙射线引起的Cerekor辐射所引起一定的噪声输出。因此在使用过程中，必要时应对PMT进行降温和光电磁屏蔽。对被测光进行聚焦并选用光阴极有效面积较小的PMT是减少PMT噪声的另一途径。

光电发射的泊松分布是引起散弹噪声的基础，通常可采用增加积分时间的办法来对其加以抑制。在高压设置方面，希望PMT的输出响应与偏置高压的关系曲线上有一定的坪区，高压值应设在坪区的起始位置。还应当注意光谱响应与被测光的谱分布间的匹配。用于单光子计数时希望PMT的脉冲高度谱中有明显的单光电子响应峰。

2、锁定放大器

在图1的PSD前加上前置放大和带通滤波（BPF）模块后便可实现一个基本的锁定放大器（LIA）。前置放大和BPF一起构成信号通道。采用BPF后可增加LIA的动态贮备。LIA和斩光器一起便可构成微弱光的相干检测系统。基本的LIA一般仅能获得被测信号的幅度信息。

若使参考通道同时提供相位相差90°的两个参考信号并且再增加一路PSD和LPF，这样不需调节相位延迟便可获得被测信号的两个正交分量Ax和Ay，从而决定其幅度 $A(=\sqrt{Ax^2+Ay^2})$ 和位相 $\psi(=tg^{-1}\frac{Ax}{Ay})$。

这便是双相LIA。

数字相敏检测（DPS）是以微机为基础，根据相干检测的原理而建立的一种信号处理方法。LIA中的PSD可直接用软件的乘法功能来实现。LPF也只是一个数字在微机中进行累加平均的过程。如果A／D转换采用VFC，则乘

法器可用简单的计数门来实现。这时只要再接一个计数器进行累加计数便可实现LDF。DPS的优点是：允许较长的LPF时间常数、线性度良好、易于实现低频信号的LIA等。不足之处是工作的上限频率受计算机速度限制。

3、BOXCAR积分器和多点平均器

通过触发和慢扫描电路，在每个周期的的固定测量点上采样一次，m个周期后再调整延迟电路进行另一测量点的多次采样和累加平均，这样逐次移到后便可描绘出一条完整的信号波形。这便是BOXCAR积分器的工作过程。优点是能够检出快速的脉冲信号；不足之处是信号的利用率较低，因而不利于低重复频率信号的恢复。

多点平均器是在此基础上利用微型计算机发展起来的。不同之处是在信号的每个周期中逐次测量很多点（如1024），这使多点平均器具有较高的信号利用率，从而缩短了测量时间。不足之处是对快速信号的检测将受到限制。

4、单光子计数器和OMA

LIA、BOXCAR积分器及多点平均器等可归为光电流测量类仪器。单光子计数器较好地利用了微弱光的粒子特性和某些PMT的单光电子响应特性以及相应的脉高鉴别和脉冲计数技术。具有较强的噪声抑制能力和较高的探测灵敏度，具有直接的数字量输出而便于和计算机的连接，从而能进行包括计数误差的修正、背景扣除、源强度补偿等进一步的数据处理。这些处理实际上已经运用了DPS及累加平均等技术和方法，因而其信噪比可得到进一步的改善。研究结果表明：PMT单光子计数器还可具有较好的动态性能。尽管其动态范围较宽，但一般单光子计数器的可测光强的上限仍较PMT LIA等低。估计这一问题在近阶段能够得到突破。单光子计数器可广泛地用于生物体的自发光及受激发光等过程的研究。

如果要进行快速光谱分析，或要对不可重复与重复代价较大的单次闪光类过程进行谱分析，则可选用近年来发展较快的光多通道分析仪（OMA），目前国内外均有这方面的产品可供，其中美国的Tracor Northern公司的TN－6500和EG&G PAR的OMA－Ⅲ等具备了较好的性能和操作方便的特点。

在测量光谱时OMA需配备专门的谱色散用多色仪。另外，和其它微弱光检测仪器相比，OMA的价格较高。

四、结束语

微弱信号检测技术在生物学研究中应用的意义是明显的。以测量发光为例，如被测光的波长为5500Å，直接用微电流计测量PMT光电流输出方法的最小可测功率为10^{-13}W（约10^{4-5}光子／秒），采用PMTLIA方法后可达10^{-16}W（约10^{2-3}光子／秒），而用PMT单光子计数方法则可使其达到10^{-19}W即可有效地测出每秒只有几个光子的微弱光，其测量灵敏度较传统的方法提高了六个数量 ，这使得许多以往无法进行的工作得以开展。

前述的几种微弱光检测方法既相对独立，又密切相关。对某些问题，使用不同的方法可得到相同的结果，此时便可根据现有条件和不同的使用代价灵活地选择仪器，而对另外一些问题，通常就只有某一特定仪器能够解决。例如光强弱到10^{2-3}光子／秒以下时通常就只能选用性能较好的PMT单光子计数器。实际应用中还存在某些特殊问题（如生物过程的试制困难、反应疲劳等），而现有的弱信号检测技术仍无法解决。深入地研究这些问题，寻求解决的方法，这方面还有很多的工作要做。

参考文献

1、H.Doherty, Techniques of Low Level Light Measurements, Laser & Applications, July, (1983)

2、大仑郁生，新しい微少信号检出とその应用，电子技术 22(14)43

3、陈佳圭，微弱信号检测，物理，6(6)-7(1)

4、陈一询，微弱信号检测仪器，第四届全国微弱信号检测学术年会论文集，1，(1986)

5、张士勇，PMT光子计数器系统误差的讨论，第四届全国微弱信号检测学术年会论文集，402，(1986)

6、张士勇、陈佳圭（导师）、沈雷洪（导师），PMT光子计数系统的动态性能研究，物理所研究生论文，(1987)

7、Tracor Northern Corp, Model TN-6500 OMA System, Catalog

8、F、R、Cournor, Noise, Edward Arnold, (1973)

光声光谱法测定绿叶的光学特性

顾　忠　黄孟才　沈雷洪

（苏州大学）

摘　要

本文针对光声光谱测量过程中，单相锁定放大器对相位的敏感特性而造成对植物绿叶测量的困难，提出采用双相正交锁定放大器来消除分层结构样品的光声信号的相位随入射波长变化而产生的误差，从而测得了完整的植物绿叶的吸收光谱。

一、引言：

叶绿素是植物合成不可缺少的催化剂，反映在吸收光谱上，在400nm附近有Soret吸收带，650nm处有叶绿素的特征吸收。如果用传统的分光光度法对植物叶子进行研究，必须先经萃取分离，才能获得萃取物溶液的吸收光谱。[1]然而光声光谱技术可以普通绿叶不经分离直接获得叶绿素的光声谱图。光声光谱技术是基于光声效应发展起来的，所谓光声效应就是指强度受调制的能量（它可以是光的形式或者是电子的形式）照射在物体上，当物体吸收了入射的能量以后，通过无辐射去激励的方式，把吸收的能量转换成热能，因为入射能量是周期性的，所以热能亦是周期性的变化，这种热能以热波的形式出现，它产生了具有一定压力的声信号，声信号的频率与入射能量的调制频率相同，其幅度和相位取决于材料的光、热特性和几何形状。这种光热、声的耦合现象即称为光声效应。[2]1976年Rosencwaig和Gersho对固体材料的光声理论作了详细阐述，并根据园柱体光声池的对称性假设了一维光声池模型，根据热扩散方程和理想气体方程导出了光声信号与吸光系数β、入射光强I_o之间的关系，并可归为两大类：

1、$Q \propto I_o$

2、$Q \propto \beta I_o$

其中Q为光声信号的复振幅。

第（1）类样品的光声信号仅正比于入射光强，而与吸光系数无关，称之

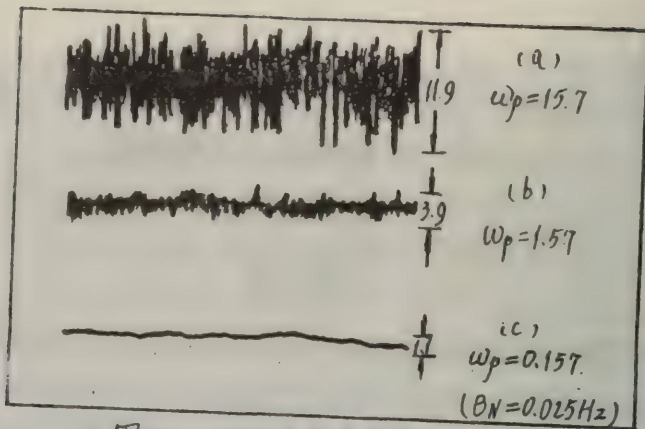


图3. LIA对噪声的抑制

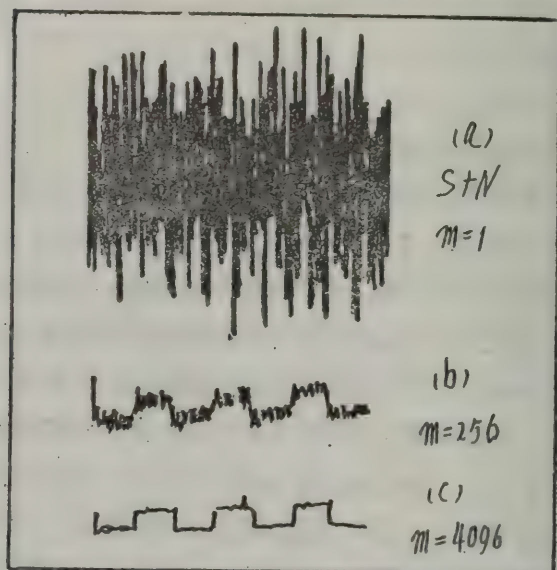


图4. 累加平均对噪声的抑制

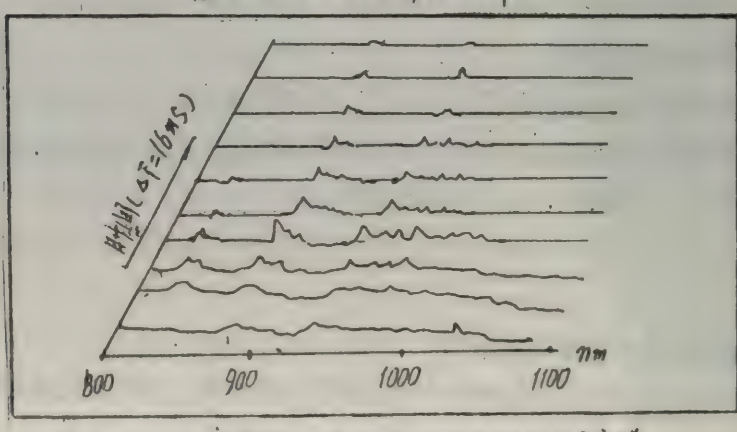


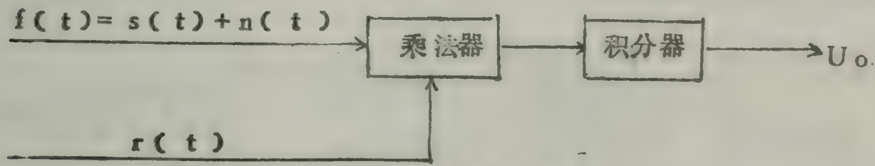
图5. 用OMA-Ⅲ实现的氙灯单次闪光时间分辨谱

为光声上的饱和，这类样品的光声谱就是入射光功率谱。目前人们常用碳黑作样品来获得光功率谱。

第（2）类样品的光声信号不仅正比于入射光强，而且正比于吸光系数β。对于这类样品，只要扣除I_o（即光功率谱）即可得到样品的吸收光谱。然而人们目前在用这种方法测量绿叶的吸收光谱时只有剥去其表皮才能测得正确的结果。[3] 这不利于对完整的植物绿叶的研究。且工作烦锁。本文将提出一种不需要做任何予处理就可测得完整绿叶的吸收光谱的方案。

二、理论分析:

由于光声信号很弱，人们常用锁定放大器从背景噪声中提取光声信号，而锁定放大器的关键部分是相敏检波器（PSD），图（1）是PSD的原理框图:



图（1）

设输入信号: $f(t)=s(t)+n(t)$

其中$s(t)$为被测信号的有效成份;

$n(t)$为迭加在$s(t)$上的随机噪声。

又设$r(t)$为与$s(t)$同频率的参考信号，则图（1）所示PSD原理可由由下式描述:

$$U_o=\lim_{T\to\infty}\frac{1}{T}\int_{-\frac{T}{2}}^{\frac{T}{2}} f(t)\cdot r(t)\,dt$$

$$=\lim_{T\to\infty}\frac{1}{T}\int_{-\frac{T}{2}}^{\frac{T}{2}} s(t)\cdot r(t)\,dt+\lim_{T\to\infty}\frac{1}{T}\int_{-\frac{T}{2}}^{\frac{T}{2}} n(t)\cdot r(t)\,dt$$

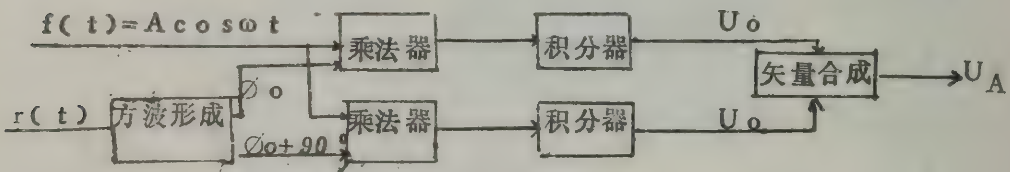
由于随机噪声$n(t)$与参考信号$r(t)$不相关，因而上式第二积分项为零。所以有:

$$U_o=\lim_{T\to\infty}\frac{1}{T}\int_{-\frac{T}{2}}^{\frac{T}{2}} s(t)\cdot r(t)\,dt$$

这里不仿假设 $s(t)=A\cos\omega t$，$r(t)=\cos(\omega t+\varnothing_o)$，其中 $\omega=2\pi f$，f为信号频率。

则：$$U_o=\frac{A}{2}\cos\varnothing_o \qquad (3-1)$$

由（3－1）式可见：PSD输出不仅正比于输入信号幅度，而且受输入信号与参考信号之间的相位差的影响。如果调节相位使 $\cos\varnothing_o=1$，则输出值正比于吸光强度，归一化处理可得吸收光谱。这对于不分层样品是可行的，然而对于分层样品，由于不同层次的吸光系数，热扩散系数不同，不同光学波长在样品中的透射深度不同，造成光声信号的相位随波长变化。这就使得连续测量过程中不能保证 $\cos\varnothing_o(\lambda)=1$，因而要获得正确的结果，就必须克服信号相位变化的影响。为此我们可以利用三角函数的正交性设计双相锁定放大器，原理框图如图（2）所示。



图（2）

设 $Y(t)=\cos(\omega t+\varnothing_o)$，则由方波形成产生同相参考信号：
$Y_1(t)=\cos(\omega t+\varnothing_o)$；
正交参考信号：$Y_2(t)=\cos(\omega t+\varnothing_o+90^\circ)=-\sin(\omega t+\varnothing_o)$

则：$$U_o=\frac{A}{2}\cos\varnothing_o$$

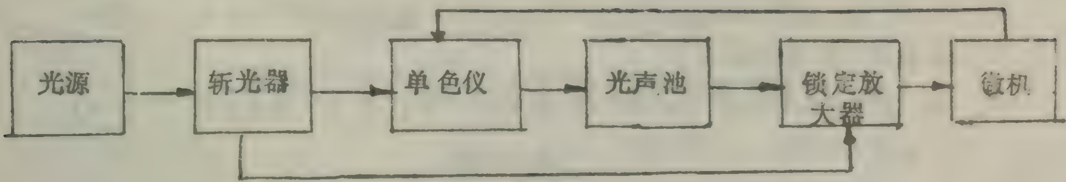
$$U_o'=\frac{A}{2}\sin\varnothing_o$$

$$UA=\sqrt{U_o^2+U_o'^2}=\frac{A}{2} \qquad (3-2)$$

由（3－2）式可见：采用双相锁定放大器，输出结果仅正比于光声信号的幅度，而与信号相位无关，这对于绿叶这类分层结构的样品就无需作任何予处理就可测得其吸收光谱。

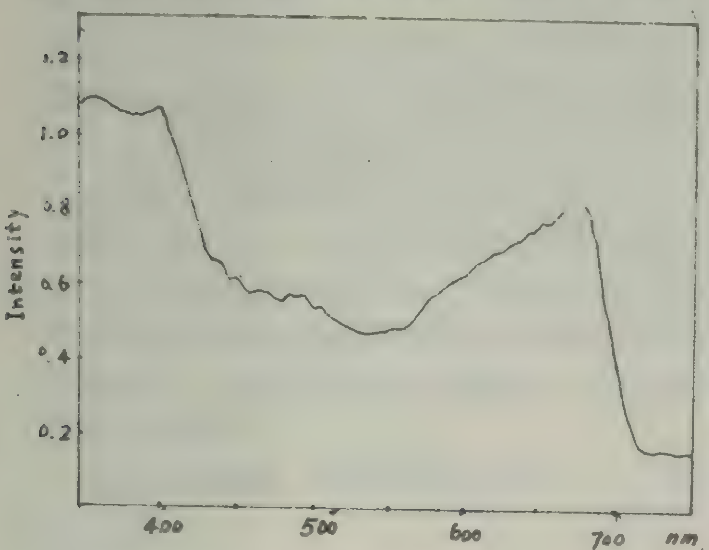
三、测量系统与应用：

光声光谱测量系统框图如下：



图（3）

图（3）中光源采用强光系统由斩光器调制，并将光聚焦于单色仪的入射狭缝上。经单色仪分光后的单色光由出射狭缝射出，照射到光声池内的样品上，光声信号由光声池中的微音计接收转换成电信号，输入至锁相放大器进行检测。另外由斩光器输出一个参考信号至锁相放大器。锁相放大器的输出信号由微机采样获得。测量时首先用碳黑作样品测得光源功率谱并由微机暂存，再测量未处理绿叶的光声谱并对光源功率谱作比例归一，得到图（4）的结果：



4. 完整冬青树叶的归一化光声谱

图中清楚地显示了420nm处的Soret带及600～700nm间的叶绿素带。通过测量各个不同生长期的绿叶，可以了解植物的生长状态。这对于植物学的研究是十分有效的。

本文作者衷心感谢苏州大学物理系生物物理医学工程研究室的全体老师的热心指导与帮助。

参考文献

1、黄孟才等.《第四届全国微弱信号检测学术会议论文集》pp165～169 (1986)
2、A. Rosencwaig & A. Gersho,《J. Appl. Phys》Vol. 47, pp64(1976)
3、M. J. Adams,《Anolyst》Vol. 101, pp553, (1976)
4、顾 忠,《光声信号实时归一化系统的研究》. 硕士学位论文(1988)苏州大学。

脉冲激光对生物组织作用的研究

王钦华　黄孟才　杭文敏

（苏州大学生物物理医学工程研究室）

摘　要

短脉冲激光作用到生物组织上，由于光声效应产生一个很强的声脉冲波，此声波导致生物组织的破坏。本文通过对脉冲激光与生物组织相互作用所产生的组织破坏的实验评价，初步探讨了相互作用机理及影响组织破坏程度的因素。

一、引言

生物医学应用中对由激光器产生的脉宽在 10^{-9}—10^{-12} 秒的光脉冲的兴趣正在日益增长〔1〕〔2〕，因此了解这些光脉冲与生物组织相互作用的基本物理和生物学事实是很重要的。本文用脉冲激光的光声效应的基本原理对激光脉冲与生物组织相互作用的实验事实及基本过程进行了阐述。

二、基本原理和实验方法

具有几个纳秒数量级的短脉冲激光聚焦到生物组织上，实际上形成了一个很强的脉冲光声效应，生物组织吸收激光能量引起内部能级的跃迁，被激发的分子以无辐射退激发方式回到基态，并释放出能量，引起生物组织局部的瞬时热膨胀，产生并向周围介质发射强声脉冲，这些声脉冲可导致生物组织的破坏。在模拟生理学条件下，把激光束会聚在生物组织上，再对生物组织进行处理，切片，在显微镜下进行评价。

基于上述思想，实验装置设计如下：

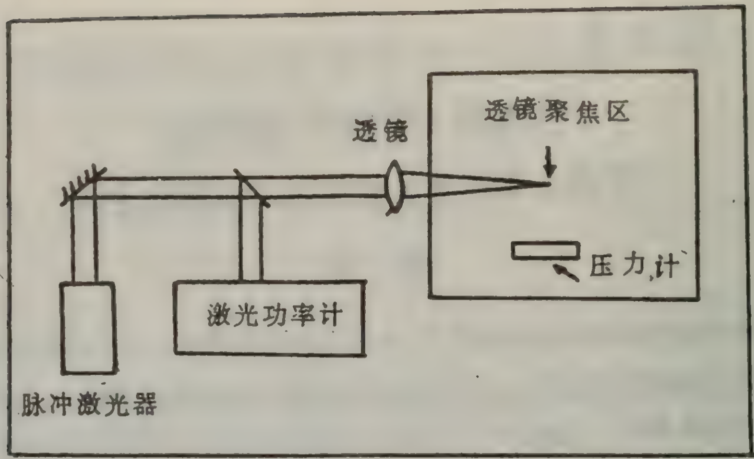


图1，实验装置图

实验中使用一台固体脉冲激光器，激光脉冲（波长1．06um，脉冲能量500mJ，脉冲宽度15ns）由透镜聚焦在实验槽中，聚焦区激光光斑直径约为0．5mm，激光能量典型值约为100mJ。实验槽中注入等渗压NaCl溶液，保持在37℃温度以供生物组织实验。

利用该装置，在距聚焦点 r_o 处的声脉冲压力的时间分辨表达式为：〔3〕

$$P(r_o, t) = \frac{E}{(2\pi\epsilon)^{3/2}}\left(\frac{v}{r_o}\right)^{\frac{1}{2}}\frac{\alpha\beta}{C_p}F(X) \qquad (1)$$

其中E为脉冲激光能量，α 为液体光吸收系数，β 为体积温度系数，C_p 为热容量，v 为液体中的声速，

$$\epsilon = \left(\tau^2 + \frac{W_o^2}{Z v}\right)^{\frac{1}{2}}, \qquad x = (t - r_o/v)/\epsilon,$$

τ 为脉冲激光持续时间，W_o 为聚焦点光斑尺寸。

实验所测得的距焦点4mm处的声脉冲压力波形为：

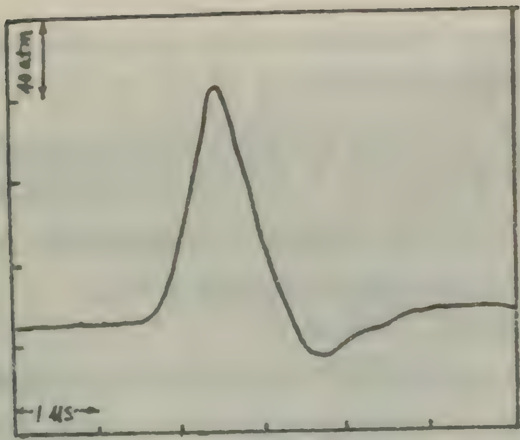


图2。声脉冲波形。激光能量100mJ，

离焦点4mm处测得。

用压力计测得距焦点4mm处声脉冲压力峰值可达100atm。此声脉冲压力随距离r按1／r规律变化。由于衍射效应和受到热传导、介质粘滞性的影响，声脉冲后部呈不规则波形。

为研究生物组织，从鼠的体内取出肾之后立即把样品放在透镜聚焦光斑处，然后取出用甲醛—钙溶液尽快固定，再制成组织切片，染色后放在显微镜下观察。

三、实验结果和分析

1、细胞组织的实验观察

用显微镜对肾组织进行观察，发现损害情况如下：

①根据激光脉冲的不同能量，可在组织表面发现0．1－0．3mm量级的球形或锥形缺口。

②在缺口表面附近纳米量级的壁层发现有明显的变化：血管破裂、尿小管基膜的爆裂、变形的细胞核、紊乱的细胞质。

2、分析与推论

激光脉冲照射到生物组织上能产生一个强有力的声冲击波，因而激光脉冲与生物组织的相互作用可以当作脉冲波和某一物体（如细胞核，细胞等）之间的冲击作用来处理。如果脉冲波时间很短，动量守恒只能由物体的一小部分来实现，

这样就引起物体的变形和破坏。而脉冲波时间与脉冲激光持续时间有关[3]。脉冲激光持续时间越短，所引起的破坏就越大。

影响相互作用程度的另一个重要物理量是作用在物体上的脉冲压力大小。从（1）式看出这同脉冲激光能量成正比。也同液体和物体间的边界条件有关。作用在生物组织上的激光能量越大，导致组织破坏的程度就越厉害。因而从根本上说，细胞组织的破坏是由脉冲激光引起的声脉冲波所造成的。

从细胞组织的观察结果来看，可推论如下：

从观察结果①来看，缺口的形成主要是在脉冲激光照射后形成瞬时迅速的热膨胀，这种迅速的热膨胀阻止了由作用区的内部向周围组织的热传导，因而只有在作用区的那部分组织受到热影响，此组织由于热作用被气化而形成缺口，这也可从由透镜决定的缺口尺寸来推断。

从观察结果②来看，在离表面很近的壁上发现明显的变化，这是由于声脉冲在组织中衰减很快，大部分声脉冲压力都作用在这很薄的区域的细胞上，此力所产生的加速度比超速离心机所能达到的要高，而超速离心机中用较小的加速度就会破坏细胞分。

四、结论

本文给出了脉冲激光与生物组织相互作用的一些基本实验事实，并试图给出这种效应的基本过程的解释，从根本上说，这种相互作用所造成的破坏是由脉冲激光光声效应所引起的声脉冲波所引起的。这与脉冲激光的能量和脉宽有直接关系。值得注意的是，如果要把脉冲激光作为一种手术方法运用于医学领域，还有待于进一步的研究。

参考文献

[1] Schmidt-Kloiber, H., Reichel, E., Schoffmann, H. "The laser mduccd Shockwave lithotripsy (LISL) Biomed technik 30 (1985) 173-181

[2] Excimers clear artiries without thermal damage Laser and Applications Jun (1985) 50

[3] 王钦华 黄孟才 孙洪伟 "液体中激光脉冲的光声偏折技术" 声学学报 待发表。

用化学发光免疫法(CLIA)筛查新生儿先天性甲状腺功能低下症(CH)的报告(摘要)

袁惠珍　陆正华　张　琳

上海市儿童医院

李正森　郑美娜

同位素室

指导　黄中

本文报导自1987年12月到1988年4月先后从上海市区及郊区12个医疗单位的新生儿在生后48～72小时从足跟采血作滤纸干血斑，用CCIA方法筛查10284名新生儿。其中促甲状腺素(TSH)>20uV/ml者176例，再以原血标本进行复查(复查率1·71)，TSH仍>20uV/ml的12例，召回此12例作血清放免法检查，确诊CH 1例。

本法最低测定浓度为1·25uV/ml，批间CV为4·38～8·08%，批内CV为3·32～8·23%。

化学发光法应用于免疫分析是近十年来发展的，本法无放射性，且试剂便宜、灵敏度高和需样品量少(本测定约用于u l血清)。国内已有仪器生产，但目前此法尚未广泛采用，有待于提高实验的稳定性及药盒的供应，前者与实验条件和操作熟练情况有关，后者则有待于试剂生产单位的努力。

TCPD在化学发光酶免疫测定中的应用

（摘 要）

张丽民 陈 杞 贺广彩 吴德林 强美玉 孙 洁

第二军医大学

本文采用自制化学发光物质TCPO体系和葡萄糖氧化酶标记的T_3抗原，进行了化学发光酶免疫测定的实验研究。

用碳二亚胺偶联牛血清白蛋白，制成T_3－甲酯－BSA免疫原，获得T_3抗血清经放射免疫测定，结合率50%以上的滴度达1／30000。

采用碳二亚胺法制得T_3－GOD，经化学发光酶免疫测定和放射免疫测定，T_3GOD均显示特异性结合，说明T_3酶联标记物仍保持T_3的生物免疫活性，TCPO－ANS体系的T_3－GOD剂量曲线，在$1-5\times10^{-4}$，稀释度范围内，呈良好的线性关系。T_3－抗血清的稀释度采用10^{-4}，T_3的化学发光酶免疫测定的稀释曲线中，发光强度随T_3－GOD量增加而增加，制得的标准曲线T_3最小可测量值为1ng，非特异结合（NSB）＜4%。

TCPO发光体系PH范围较宽（PH 4－10），可方便地在产生H_2O_2的弱碱催化溶液中，加入TCPO和荧光分子ANS，以捕获化学能，并使其转变成可见光。

脉冲计数法与光度积分法在发光分析中的使用和比较

（摘 要）

贺广彩 陈 杞 张丽民

第二军医大学

从发光仪器的基本线路和结果显示来看，主要为两类发光检测仪器，即脉冲放大及脉冲计数显示和电流放大及记录光度积分值，前者以CSP表示，后者用mv显示，为了比较它们的检测特点和适用范围，我们设计改装了一台同时检测一个样品两种检测方式的测量装置，对比观察了不同发光体系的测量和几

种检测方式的比较。

结果显示。脉冲计数法适于超微发光和发光持续时间较长的发光体系；而光度积分法能反映瞬间光强度。有利于观察发光衰变短的发光体系。特别能准确地记录发光峰值。两者在一定的发光强度范围内线性关系和斜率是一致的。但发光强度较高时。脉冲计数法显示线性关系差些；而发光强度微弱时光度积分法显示差别不明显。

光质对钝顶螺旋藻(Spirulina platensis)生长、光合放氧和放氢活性的影响

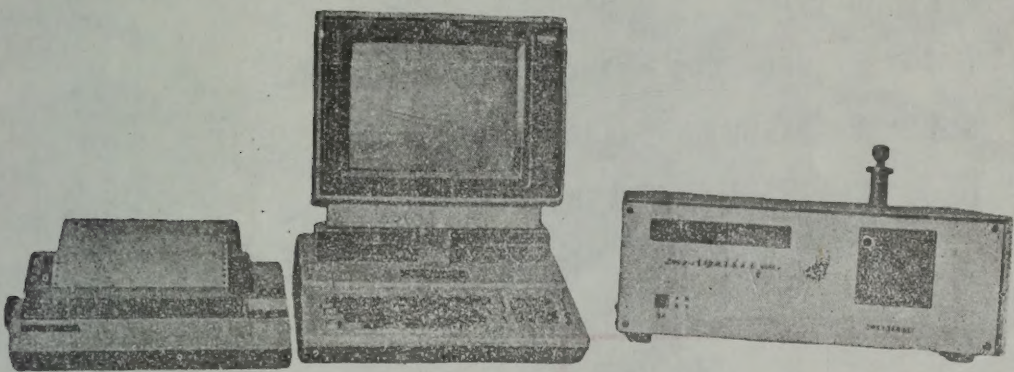
张爱琴　方昭希
（北京大学生物系）

以钝顶螺旋藻为材料，研究了五种不同光质(白、红、黄、绿、蓝)对其生长、色素和蛋白质含量以及对放氧、放氢活性的影响。实验结果表明红光对螺旋藻的生长有明显促进作用，白、黄光次之，绿光下藻的生长很慢。在红光下培养10天的藻的干重积累量是绿光下的3.5倍。蓝光下培养的藻叶绿素含量偏低。绿光下生长的藻藻胆素含量最低，但蛋白质含量最高。蓝光下生长的藻放氧活性最高，绿、黄光下生长的藻次之，白光下生长的藻最低。不同光质下培养的藻暗放氢活性以绿光下的藻最高，蓝光和黄光培养下的次之，白光和红光下的藻最低。

实验结果说明长波光有利于螺旋藻的生长和干重的积累，促进叶绿素、藻胆素的形成；而短波光不利于藻的生长和干重积累，但利于蛋白质的合成，光合活性和放氢能力也较高。

SHG—1生物化学发光测量仪

生物、化学发光是自然界里一种普遍现象，从低等的细菌到高等的发光鱼类、作物幼苗、植物枝叶以及人体各部位、经络穴位、细胞、血清等都具有超弱发光。对超微弱发光分析，目前国内是空白。本仪器灵敏度高、稳定性好、线性范围宽、应用面广，是一切生物、化学发光测量技术必备仪器，该仪器对发光分析技术的研究和应用，将作出一定的贡献。该仪器可对生物超微弱发光和ABEI、TCPO、ATP等发光光强的测量。在免疫学、微生物学、生物化学、临床诊断、毒理学、食品卫生检验及医学、农业、工业、环保、食品卫生等学科领域广泛应用。



仪器功能：

- 一次12只样品自动测量。
- 可通过自动加热装置，使被测样品温度控制在10～45℃范围，样品通过加样口，将样品注入。
- 从0～999秒任意选样定时。
- 单个样品重复测量1～999次任意预置。
- 一组样品测量周次1～10次循环任意预置。
- 自动减算本底、自动制作标准曲线，自动测定换算未知样品浓度

中科院植物所图书馆
S0014747

值，并可显示打印记录、图标、数据。

- 光强峰值、光强量积分、光强斜率测量计算、图标、数据显示打印由计算机自动控制。

技术指标：

- 测定植物幼苗、匀浆、液体等一切物质的超微弱发光。
- 测定对化学发光物质的探测极限为10^{-14}mol ABEI。
- 测定对生物化学发光物质的探测极限为10^{-13}mol ATP。
- 用校准光源测定仪器稳定度在240小时内变化±1%。
- 使用电源电压：～180V—～250V

重量：30kg

外形尺寸：500×505×210（不包括输液器）mm。

参考价格：24500元（含微机）

17500元（不含微机）

仪器工作台、椅，用户需要另行收费。

收到期 1988.11.15
来源 特购
书价 15.00元
单据号
开票日期

上海市计量局实验工厂

厂　址：上海市长乐路1219号

电　话：314768　电　报：2994

24665 58.171083
144

第二届全国光生物学学术讨论会
论文集 1988年

借者单位	借者姓名	借出日期	还书日期

分类	编号
登记号	

58.171083
144

24665

读者注意

1. 爱护公共图书切勿任意卷折和涂写，损坏或遗失照章赔偿。
2. 请在借书期限前送还以便他人阅读请赐予合作。

成1106-1